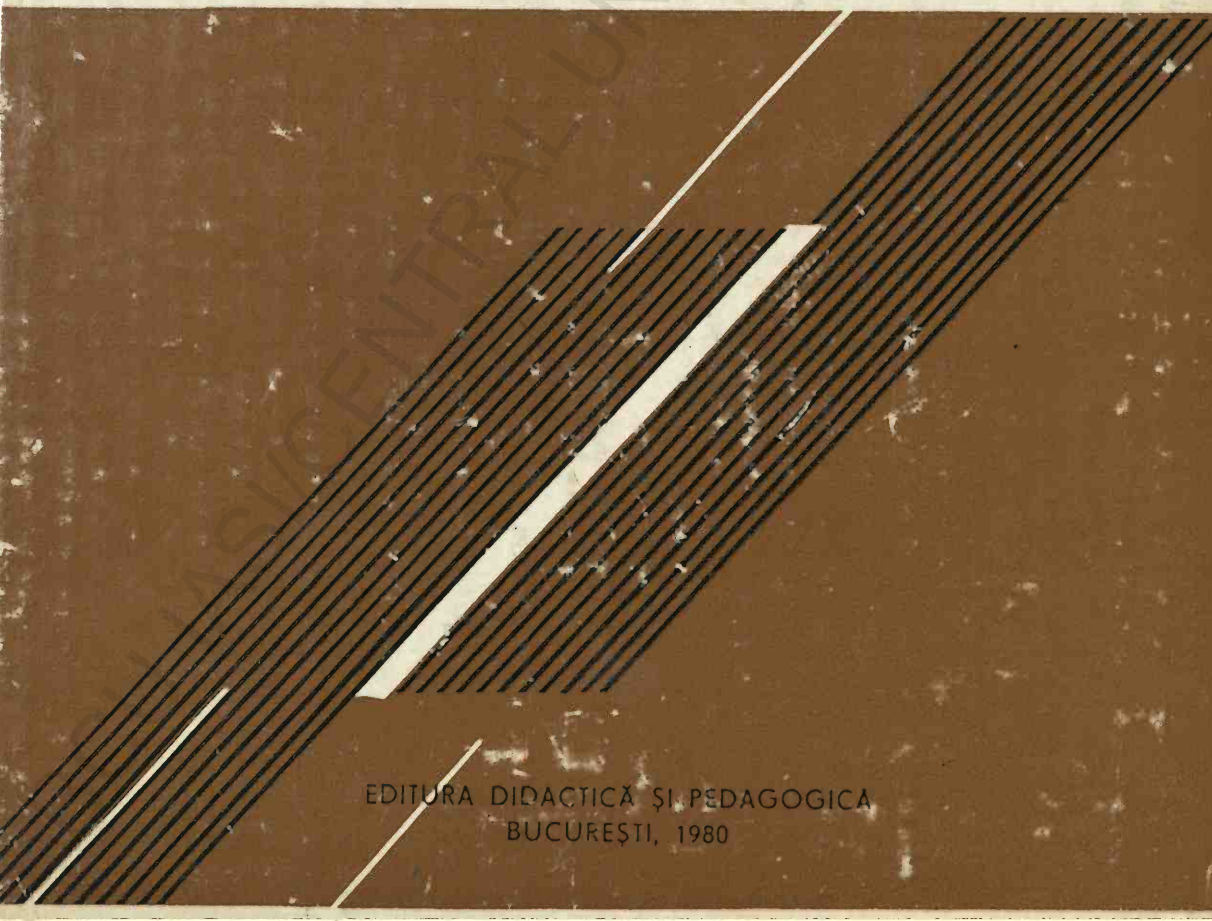
D.-G. MARGINEANU
M. I. ISAC
C. TARBA

# BIOFIZICĂ



EDITURA DIDACTICĂ ŞI PEDAGOGICĂ
BUCUREŞTI, 1980

BIBLIOTECA CENTRALĂ UNIVERSITARĂ

MINISTERUL EDUCAȚIEI ȘI ÎNVĂȚĂMÎNTULUI

D.-G. MĂRGINEANU
Lector univ. dr.

M. I. ISAC
Lector univ. dr.

C. TARBA
Lector univ. dr.

# BIOFIZICĂ

EDITURA DIDACTICĂ ȘI PEDAGOGICĂ
BUCUREȘTI

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

# PREFAȚĂ

*Se poate afirma, fără exagerare, că elaborarea unui curs de biofizică pentru studenții facultăților de biologie este o muncă pe cît de dificilă, pe atît de responsabilă. Dificultățile pe care le întîmpină orice tentativă de acest gen țin nu numai de vastitatea domeniului și de marea complexitate a cunoștințelor necesare abordării problemelor de biofizică, ci sînt generate în mare măsură de spațiul cu totul restrîns acordat biofizicii în actualele planuri de învățămînt, alături de inexistența unei alte instruiri de fizică pentru studenții biologi. În aceste condiții, ies cu atît mai mult în evidență necesitatea eforturilor de a pune în contact actuala generație de studenți biologi cu una din cele mai de avangardă și promițătoare discipline din contextul științelor biologice. Autorii au investit în realizarea acestei lucrări elanul pentru munca didactică, pasiunea pentru domeniul biofizicii și competența pe care au acumulat-o, activînd în cercetarea diferitelor probleme majore de biofizică.*

*Fără a face aici o prezentare detaliată a conținutului acestui manual, a reușitelor și a inerentelor sale limitări, remarcăm modul în care el atestă părerea tot mai larg acceptată că, în epoca noastră, științele vieții trebuie să se ghideze după conceptele fizicii și rigorile matematicii. Dincolo de a fi un scop în sine, manualul de biofizică oferă pentru celelalte științe biologice un limbaj și metode obiective de studiu, creează un cadru riguros de tratare și furnizează studenților cunoștințe indispensabile despre fenome-*

PARTEA A DOUA

## ELEMENTE DE BIOFIZICĂ A STRUCTURII ȘI FUNCȚIONĂRII ORGANISMELOR


**4. Apa în sistemele biologice (D.-G. Mărgineanu)** ... 46

4.1. Importanța apei în sistemele biologice ... 46
4.1.1. Conținutul de apă al organismelor și țesuturilor ... 47
4.1.2. Proprietățile fizice și structura apei ... 48
4.2. Starea apei în sistemele biologice ... 50
4.2.1. Compartimentarea apei în organismul uman ... 50
4.2.2. Stările apei intracelulare ... 52

**5. Fenomene moleculare în fluide (C. Tarba)** ... 55

5.1. Soluții ... 55
5.1.1. Tipuri de soluții ... 55
5.1.2. Proprietățile soluțiilor ionice ... 56
5.1.3. Soluții coloidale ... 61
5.2. Fenomene de suprafață ... 62
5.2.1. Tensiunea superficială ... 62
5.2.2. Capilaritatea și adsorbția ... 63
5.3. Fenomene de transport ... 64
5.3.1. Viscozitatea ... 64
5.3.2. Difuzia ... 65
5.3.3. Osmoza ... 67

**6. Organizarea moleculară și supramoleculară a materiei vii (M. Isac și D.-G. Mărgineanu)** ... 71

6.1. Forțe interatomice și intermoleculare ... 73
6.1.1. Stări energetice ale moleculelor ... 75
6.1.2. Legătura London-van der Waals ... 76
6.1.3. Legătura prin punte de hidrogen ... 78
6.1.4. Interacțiunea hidrofobă ... 79
6.2. Arhitectura componenților moleculari ai materiei vii ... 80
6.2.1. Structura proteinelor și acizilor nucleici ... 81
6.3. Organizarea supramoleculară a materiei vii ... 84

**7. Membrane, fenomene de transport și bioenergetică celulară (C. Tarba)** ... 88

7.1. Membrane vii și membrane model ... 88
7.1.1. Rolul și structura membranelor vii ... 88
7.1.2. Membrane model. Reconstituirea unor funcții biologice în aceste membrane ... 90
7.1.3. Unele metode speciale folosite în studiul membranelor ... 91
7.1.4. Transportul prin membrane vii ... 93
7.2. Bioenergetică ... 97
7.2.1. Probleme generale ale bioenergeticii ... 97
7.2.2. Originea energiei în biosferă. Cuplajul în bioenergetică ... 97
7.2.3. Stocarea și utilizarea energiei la nivel celular ... 98
7.2.3.1. Teoria chemiosmotică a cuplării energetice ... 99
7.2.3.2. Alte ipoteze cu privire la conservarea energiei ... 106

8. **Fenomene bioelectrice (D.-G. Mărgineanu)** ... ... ... ... ... ... ... ... 103
8.1. Potențialul de repaus al celulelor ... ... ... ... ... ... ... ... ... 103
8.2. Biofizica propagării influxului nervos ... ... ... ... ... ... ... ... 111
8.2.1. Propagarea recurentă și saltatorie în fibrele nervoase ... ... ... 114
8.2.2. Activitatea electrică a trunchiului nervos ... ... ... ... ... ... 116
8.2.3. Propagarea semnalelor în membranele excitabile ... ... ... ... 117
8.3. Mecanismele biofizice ale transmisiei sinaptice ... ... ... ... ... ... 118
8.3.1. Condiții specifice pentru transmisia sinaptică prin mediatori chimici și prin curent electric ... ... ... ... ... ... ... ... ... 119
8.3.2. Succesiunea de procese din care constă transmisia chimică sinaptică 121
8.3.3. Sinapse cu transmisie electrică ... ... ... ... ... ... ... ... 122
8.4. Mecanismele biofizice ale funcționării receptorilor biologici ... ... ... 124
8.4.1. Biopotențialele celulelor receptoare ... ... ... ... ... ... ... ... 125

**9. Noțiuni de biomecanică (M. Isac)** ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 129
9.1. Mușchiul și contracția musculară ... ... ... ... ... ... ... ... ... 129
9.1.1. Elemente de structură a mușchilor striați ... ... ... ... ... ... 130
9.1.2. Bioelectrogeneza fibrei musculare ... ... ... ... ... ... ... ... 133
9.1.3. Funcționarea joncțiunii neuromusculare ... ... ... ... ... ... 133
9.2. Mecanismul molecular al contracției musculare ... ... ... ... ... ... 135
9.2.1. Contracția musculaturii netede ... ... ... ... ... ... ... ... ... 139
9.3. Aspecte termodinamice ale contracției musculare ... ... ... ... ... 139
9.4. Mișcarea prin cili, flageli și amiboidală ... ... ... ... ... ... ... ... 142

PARTEA A TREIA

## ELEMENTE DE BIOFIZICĂ A FACTORILOR AMBIANȚI

**10. Influența temperaturii asupra sistemelor biologice (D.-G. Mărgineanu)** ... 146
10.1. Efectul temperaturii asupra transformărilor moleculare ... ... ... ... 147
10.2. Efectele nocive ale temperaturilor excesive ... ... ... ... ... ... ... 149
10.2.1. Efectul temperaturilor ridicate ... ... ... ... ... ... ... ... 149
10.2.2. Efectul temperaturilor scăzute ... ... ... ... ... ... ... ... 150

**11. Radiații electromagnetice neionizante și efectele lor biologice (D.-G. Mărgineanu** ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 152
11.1. Natura și caracteristicile fizice ale radiațiilor electromagnetice ... ... 152
11.1.1. Flux radiant și mărimi fotometrice ... ... ... ... ... ... ... ... 155
11.1.2. Radiația solară și absorbția atmosferică ... ... ... ... ... ... 156
11.2. Efectele radiațiilor electromagnetice neionizante asupra moleculelor ... 157
11.2.1. Stări singlet și triplet ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 159
11.2.2. Dezexcitarea moleculelor : fluorescență, fosforescență și tranziții neradiative ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 160
11.2.3. Transformări moleculare produse de absorbția radiațiilor electromagnetice neionizante ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 161
11.3. Influența radiațiilor electromagnetice neionizante asupra organismelor 162

**12. Efectele radiațiilor ionizante asupra sistemelor biologice (Maria-Luiza Flonta)** ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 164

12.1. Interacțiunea primară a radiațiilor ionizante cu materia ... ... ... ... 164
12.1.1. Interacțiunea particulelor încărcate electric cu materia ... ... 165
12.1.2. Interacțiunea fotonilor $\gamma$ cu materia ... ... ... ... ... ... ... 166
12.2. Dozimetria radiațiilor ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 168
12.3. Reacțiile radiochimice ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 170
12.3.1. Radiochimia apei și a compușilor organici. ... ... ... ... ... 170
12.4. Efectul radiațiilor „in vivo" ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 173
12.4.1. Efecte asupra funcțiilor celulare ... ... ... ... ... ... ... ... 173
12.4.2. Efectele genetice ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 177
12.4.3. Efectele iradierii accidentale ... ... ... ... ... ... ... ... ... 178
12.5. Utilizarea biologică și medicală a radiațiilor ionizante ... ... ... ... 179
12.6. Noțiuni de protecție împotriva radiațiilor ionizante ... ... ... ... ... 179
12.6.1. Elemente de radioprotecție ... ... ... ... ... ... ... ... ... 179
12.6.2. Poluarea radioactivă a mediului ... ... ... ... ... ... ... ... 180
12.6.3. Surse de iradiere umană ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 181

**ANEXE**

I. *Mărimi și unități* **(D.-G. Mărgineanu)** ... ... ... ... ... ... ... ... ... 183
II. *Noțiuni de hemodinamică* **(M. Isac)** ... ... ... ... ... ... ... ... ... ... 186
III. *Metode spectroscopice utilizate în biologie* **(C. Tarba)** ... ... ... ... ... 193
IV. *Spectroscopia de absorbție atomică* **(Anastasia Constantinescu)** ... ... ... 205
V. *Tehnici de separare în cimp electric* **(Gabriela Angel)** ... ... ... ... ... 209
VI. *Analiza termală diferențială* **(ATD) (Gh. Vass)** ... ... ... ... ... ... ... 218
VII. *Metode de detectare a radiațiilor ionizante* **(Maria-Luiza Flonta)** ... ... ... 222

BCU IAȘI/CENTRALĂ UNIVERSITARĂ LIBRARY

# 1

# BIOFIZICA ÎN ANSAMBLUL ȘTIINȚELOR BIOLOGICE

Una dintre caracteristicile definitorii ale dezvoltării contemporane a tuturor științelor este cercetarea complexă a obiectelor de studiu, cu metode cît mai diversificate și cu o abordare multiplă. În particular, în ceea ce privește științele biologice, cele mai ample eforturi sînt orientate în prezent spre descifrarea și înțelegerea aprofundată a intimității mecanismelor vieții oricărui organism și ale existenței și devenirii tuturor sistemelor biologice. Consecința firească a reprezentat-o afirmarea spectaculoasă, mai ales în ultimele decenii, a unor domenii științifice noi, situate la „granița" dintre științele tradiționale, în special dintre biologie și chimie, fizică, matematică, științe tehnice.

Definită succint, *biofizica reprezintă studiul fenomenelor fizice implicate în funcționarea sistemelor biologice, știință ce utilizează tehnici și concepte fizico-chimice, precum și aparatul matematic asociat acestora, pentru cercetarea fenomenelor lumii vii.* Aflată în plin proces de maturizare metodologică și conceptuală, ca și de afirmare clară a implicațiilor și aplicațiilor sale practice, biofizica este o știință „tînără" numai în ceea ce privește vigoarea dezvoltării sale, dar reprezintă o certitudine a progresului științific și tehnic contemporan, datorită contribuțiilor aduse la înțelegerea aprofundată a numeroase fenomene biologice.

## 1.1. OBIECTUL ȘI METODELE BIOFIZICII

Definirea de mai sus a termenului „*biofizică*" exprimă principalele tipuri de probleme pe care le abordează această știință :

— studierea aspectelor fizice ale fenomenelor biologice, pentru cunoașterea aprofundată a acestor fenomene ;

— cunoașterea efectelor biologice ale factorilor fizici ambianți ;

— folosirea tehnicilor fizice în abordarea unor probleme de biologie.

Preocupările biofizicii, în prezent foarte diversificate, pot fi sistematizate atît în funcție de domeniul din fizică pe a cărui aplicare se bazează, cît și de nivelul de organizare a „obiectelor" biologice de studiu.

Privită în sens de fizică aplicată, biofizica „utilizează" mai toate capitolele clasice și moderne ale fizicii. Astfel, studiile de *biomecanică* îmbracă un spectru larg de probleme, de la diferitele tipuri de locomoție animală pînă la motilitatea celulară și la proprietățile mecanice ale componenților celulari. *Bioenergetica* și *biotermodinamica* se ocupă atît de utilizarea și multiplele conversii de energie la nivel celular și de organism, cît și de problemele energetice ale marilor sisteme biologice de nivel supraindividual. O mare dezvoltare a căpătat studiul diferitelor manifestări *bioelectrice* celulare, tisulare și de organ, fenomene care exprimă funcționalitatea respectivelor stucturi și constituie baza unui grup important de investigații clinice. Utilizarea în biofizică a unor capitole moderne din *fizica cuantică*, din *fizica stării solide* sau din domeniul încă nativ al *fizicii stării lichide* a decurs în mod firesc odată cu abordarea unor probleme ca recepția energiei radiante, proprietățile biopolimerilor și modalitățile de conversie a energiei la nivelul lor, fenomene ce au loc în structuri supramoleculare de tipul membranelor celulare și intracelulare etc.

Clasificarea metodologică a problemelor biofizicii, în funcție de capitolele de fizică utilizate, are numai rolul de a ilustra vastitatea domeniului de studiu. Semnificativă este însă definirea cercetărilor în funcție de nivelul de organizare a sistemului biologic studiat. Din acest punct de vedere, distingem : *biofizica moleculară*, care studiază proprietățile moleculelor componente ale materiei vii și fenomenele ce se produc în agregatele supramoleculare ; *biofizica celulară*, cuprinzînd ansamblul de probleme biofizice (electrice, mecanice, termice etc.) la nivel celular și *biofizica sistemelor complexe* — termen prin care se desemnează cercetările de biofizică începînd de la nivel tisular și de organ, ajungînd pînă la sistemele biologice supraindividuale.

## 1.2. ORIGINEA ȘI EVOLUȚIA BIOFIZICII

Pentru un domeniu prin excelență interdisciplinar — ale cărui legături cu numeroase alte ramuri ale biologiei, cu științele medicale, cu chimia și, desigur, cu matematica și cu științele tehnice, nu sînt de simplă contiguitate ci de evidentă relație reciprocă — nu este utilă și, deci, nu are sens trasarea unor delimitări nete. De aceea, atît originea și evoluția biofizicii, cît și apoi realizările și perspectivele acestei științe, trebuie analizate în mod integrat în ansamblul științelor biologice și, mai general, al progresului științific și tehnic.

Deși privită adesea ca unul dintre noii născuți în familia științelor, biofizica, sau mai precis cercetări de factura pe care astăzi o desemnăm prin acest termen, datează de cel puțin cîteva secole. Această situație este firească, deoarece abordării materialiste a oricărui aspect al naturii îi este proprie dintotdeauna căutarea și explicarea mecanismelor fizice specifice acestui domeniu. Acceptarea filozofică a unității materiale a lumii nu numai că exclude plasarea unor bariere disjunctive între studiul ma-

teriei vii și nevii, dar chiar impune găsirea legităților generale ale naturii, capabile să o explice în mod materialist în toată diversitatea sa.

Trecînd peste începuturile generale ale tuturor științelor, cărora le putem găsi rădăcini — cel puțin pentru aria europeană — în cultura antichității grecești, momente semnificative pentru originea biofizicii sînt reprezentate de studiile lui Leonardo da Vinci (1452—1519) asupra zborului păsărilor și, mai ales, de cercetările de biomecanică ale lui Giovanni Alfonso Borelli (1608—1679). Într-un tratat despre mișcarea animalelor, acesta a căutat să explice tipurile de mișcări ale vertebratelor în termenii fizicii prenewtoniene, în special prin descompunerea forțelor după regulile staticii.

Adesea, drept început al biofizicii sînt considerate observațiile din 1786 ale lui Luigi Galvani (1737—1798), referitoare la excitabilitatea mușchiului de broască izolat, prin care acesta a inițiat studiul bioelectricității. Din disputa sa științifică cu Alessandro Volta (1745—1827), care a contestat ideea producerii de electricitate de către țesuturi, au avut de profitat atît electrofiziologia, cît și electrochimia. În 1801, fizicianul și medicul englez Thomas Young a propus ipoteza tricromatică a vederii, aceasta stînd la baza tuturor teoriilor moderne asupra vederii colorate. Tot el a inițiat studiile de hidrodinamică a circulației sanguine.

O bună parte din marii fiziologi ai secolului al XIX-lea au întreprins cercetări cu caracter de biofizică. Obiectivul afirmat al fiziologiei (J. Müller ș.a.) era acela de a fi o aplicare a fizicii și chimiei la studiul funcțiilor organismului. Din el au decurs un număr considerabil de descoperiri în biofizică, simpla lor enumerare depășind cadrul acestei expuneri introductive. Însă, dintr-o schiță istorică oricît de sumară, nu pot fi omise cercetările lui Hermann Helmholtz (1821—1894) care a studiat contracția musculară, a măsurat cu o precizie remarcabilă viteza de propagare a influxului nervos, a dezvoltat teoria lui Young a vederii colorate și a elaborat explicația biofizică a perceperii sunetelor muzicale. Helmholtz este un clasic nu numai pentru fiziologie, ci și în fizică și în matematicile aplicate.

Un rezultat de maximă importanță al întregii științe a secolului al XIX-lea a fost formularea de către medicul german J. R. Mayer (1814—1878) a *legii transformării și conservării energiei*. Aceasta reprezintă principiul I al termodinamicii, pe care Fr. Engels îl enumeră printre cele trei mari generalizări științifice decisive pentru afirmarea concepției materialiste și a metodei dialectice [1]. Această lege generală a naturii a fost formulată pornindu-se de la o observație de factură medicală (referitoare la diferențele de oxigenare a sîngelui în zone climatice diferite) și este aproape firesc să nu fi fost descoperită mai întîi de un fizician „pur", deoarece conversiile de energie în lumea vie au o astfel de amploare, încît se impun cu evidență.

Descoperirea în 1895 a radiațiilor X a deschis calea unui impresionant șir de aplicații, în primul rînd medicale (determinînd chiar apariția unei specialități medicale importante — radiologia), dar și biologice (inducerea de mutații).

---

[1] K. Marx și Fr. Engels, *Opere*, vol. XX. București, Editura Politică, 1964, p. 494.

După aceste începuturi și apoi după o relativă stagnare a cercetărilor de biofizică în ultimele decenii ale secolului trecut și primul sfert al secolului nostru, o adevărată „constituire" a biofizicii s-a produs în ultimele patru decenii, atunci cînd rezultatele obținute au făcut să i se acorde un larg interes.

Primele publicații periodice dedicate biofizicii au apărut încă din 1902, dar au avut o existență efemeră. În 1939 și-a început apariția, neîntreruptă pînă în prezent, „Buletinul biofizicii matematice" (la Chicago, S.U.A.), iar din 1947 apare, la Amsterdam, revista internațională „Biochimica et Biophysica Acta".

Într-un prim tratat de biofizică (urmînd mai multora de fizică medicală), apărut în 1921, cunoștințele deja acumulate pînă atunci erau prezentate pe parcursul a aproape 600 de pagini. În 1925 a apărut o lucrare ce a marcat profund evoluția ulterioară a cercetărilor de biofizică : *Elemente de biologie fizică* de A. J. Lotka. Amploarea obiectivelor propuse, precum și utilizarea adecvată a sistemelor de ecuații diferențiale și integrale pentru descrierea proceselor biologice complexe fac ca, adesea, această lucrare să constituie un element de referință și în prezent. O serie de tratate de biofizică medicală au punctat, de asemenea, dezvoltarea biofizicii în prima jumătate a secolului nostru (de exemplu, volumele clasice editate de Otto Glasser).

Caracterul foarte variat al cercetărilor experimentale de biofizică a făcut ca ele să fie publicate în reviste științifice cu titulaturi dintre cele mai diverse, situație ce persistă încă în bună măsură. Primele reviste exclusiv de biofizică au apărut în deceniul al șaselea : „Biofizika" (în U.R.S.S.) în 1956 și „Biophysical Journal" (în S.U.A.) în 1960, ca organe ale societăților de biofizică din aceste țări.

Amplificarea și diversificarea accentuată a cercetărilor de biofizică își găsesc o expresie clară și în „proliferarea" publicațiilor științifice cu conținut de biofizică, dedicate în prezent cîte unui subdomeniu foarte specializat (biomecanică, biofizica membranelor etc.). Un număr crescînd de publicații sînt consacrate aplicațiilor tehnice ale biofizicii, denumite în mod curent „bioinginerie".

Apărută ca urmare a utilizării tot mai largi a metodelor fizice în biologie și în medicină și, deci, reprezentînd din punct de vedere metodologic o aplicare a fizicii, prin obiectul ei de studiu biofizica se definește drept parte integrantă a științelor biologice.

Extrema diversitate a problemelor biofizicii (ca, dealtfel, și ale biochimiei) justifică însă a vedea în biofizică nu doar „unul dintre" domeniile biologiei, ci o trăsătură definitorie a biologiei contemporane în general. Pe de altă parte, este evident desigur că biologia nu se reduce la biofizică, după cum fenomenul complex al vieții oricărui organism nu se reduce la procesele fizice pe care le implică.

În ceea ce privește raporturile cu fizica, se constată că biofizica nu doar aplică conceptele și tehnicile fizice, ci le și impulsionează dezvoltarea. Studiul organismelor vii a devenit în ultimele decenii o sursă de idei științifice pentru fizică, alăturîndu-se astfel practicii inginerești care a jucat acest rol încă de la începutul secolului trecut.

## 1.3. REALIZĂRI ŞI PERSPECTIVE ÎN BIOFIZICĂ

Ilustrativ atît pentru fecunditatea domeniului biofizicii, cît şi pentru importanţa ce i se acordă, este şi numărul mare de premii Nobel atribuite unor cercetări cu incontestabil caracter de biofizică. Pentru a da o imagine atît asupra realizărilor ştiinţifice, cît şi a importanţei aplicaţiilor practice care decurg din cercetările de biofizică, fără a intra în detalierea problematicii schiţată anterior, sînt concludente cîteva exemple.

Descoperirea radiaţiilor nucleare şi a posibilităţii de a obţine izotopi radioactivi artificiali a dat naştere unui domeniu atît de vast al cercetărilor biologice — *radiobiologia* —, încît mult timp biofizica era în bună parte confundată cu acesta. Importanţa studierii acţiunii radiaţiilor asupra organismelor, accentuată în mod brutal de existenţa armelor nucleare, este în continuă creştere, în condiţiile unei utilizări industriale tot mai largi a surselor de radiaţii. O extensie specială a acestui domeniu este studiul comportării organismelor în condiţii extreme, aşa cum se întîlnesc în spaţiul extraterestru. Utilizarea izotopilor radioactivi ca trasori permite, într-o măsură mai mare decît orice alt grup de metode, elucidarea schimburilor de substanţe în interiorul organismelor, pînă la nivel intracelular, precum şi „vizualizarea" multiplelor transformări metabolice suferite de către substanţe în organisme. Acest domeniu, în care cantitatea de rezultate deja acumulate este impresionantă, continuă să fie foarte productiv pe plan ştiinţific şi a dat utilizări practice de o certă importanţă, aşa cum sînt explorările clinice cu radioizotopi, terapia cu radioizotopi şi cu alte surse de radiaţii (inclusiv laseri), precum şi obţinerea dirijată de mutanţi utili economic.

Studiul *manifestărilor electrice* care însoţesc activitatea celulelor şi a organelor excitabile a permis aprofundarea cunoştinţelor despre funcţiile acestor organe, deci inclusiv ale creierului şi a dat naştere, în acelaşi timp, unei game de explorări clinice (electrocardiografia, electroencefalografia etc.) de cea mai largă utilizare. Tot în acest domeniu se încadrează şi studiul receptorilor biologici, acei detectori proprii prin care organismele iau cunoştinţă despre parametrii fizico-chimici ai mediului ambiant. Se caută ca rezultatele obţinute în descifrarea acestor mecanisme biofizice să fie utilizate în viitor pentru aplicaţii tehnice.

Derivat din constatarea că *membranele biologice*, avînd rol de delimitare activă între diferitele „compartimente" ale organismului şi chiar ale unei celule, sînt omniprezente în cadrul acestora, studiul fenomenelor de membrană din sistemele biologice a căpătat în ultimii ani o amploare cu totul deosebită. Aceasta este justificată atît de importanţa şi diversitatea proceselor fiziologice în care sînt implicate membranele, cît şi de legătura nemijlocită cu numeroase aplicaţii practice. Electrozii selectivi (membrane permeabile doar pentru anumiţi ioni), rinichiul artificial (hemodializorul), instalaţiile de desalinizare a apei de mare, cele de ultrafiltrare a reziduurilor industriale sînt numai cîteva exemple dintr-o serie amplă, dar încă incipientă, de utilizări practice ale fenomenelor de membrană.

Aceste trei exemple, cu adevărat majore, nu sînt nici pe departe singurele concludente, în ceea ce priveşte realizările şi perspectivele biofizicii. Astfel, studiul structurii spaţiale a *biopolimerilor*, derivat din cristalo-

grafia de raze X, stă la baza geneticii moleculare ; *biocibernetica* are un impact larg asupra întregii gîndiri științifice actuale ; de la studiul contracției musculare se speră realizarea directă și cu randament ridicat a *conversiei chemo-mecanice de energie* și seria exemplificărilor poate continua.

Încă odată, referitor la cercetările de biofizică, trebuie subliniată strînsa lor conexiune și evidenta interdependență cu alte domenii, în multe cazuri științe tot tinere, ca și biofizica : citofiziologia, biochimia și chimia fizică, genetica moleculară etc. De asemenea, se constată că în biofizică nu numai că se folosesc tehnici experimentale de vîrf dar, pentru descrierea fenomenelor studiate, este necesară utilizarea curentă a unui aparat matematic complex.

## Partea întîi

# PRINCIPII FUNDAMENTALE ALE ABORDĂRII BIOFIZICE

Studiul aspectelor fizice ale fenomenelor biologice se bazează pe utilizarea în fiecare caz concret a *metodelor* experimentale și a *conceptelor* adecvate problemei respective. În afară de acestea însă, putem distinge *noțiuni* și *principii* cu o sferă foarte largă de aplicabilitate, a căror cunoaștere oferă cadrul general de abordare biofizică a tuturor fenomenelor biologice, indiferent de nivelul de organizare la care se desfășoară.

În următoarele două capitole vor fi studiate principalele noțiuni de acest tip, referitoare la aspectul energetic și informațional al fenomenelor biologice.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

# 2

# ELEMENTE DE TERMODINAMICĂ BIOLOGICĂ

Termodinamica biologică se ocupă în special cu studiul transformărilor de energie în sistemele biologice. Dată fiind importanța primordială pentru lumea vie a multiplelor procese de conversie de energie, termodinamica biologică este unul din capitolele fundamentale ale biofizicii contemporane, în cadrul căruia sînt formulate legile generale ale funcționării oricărui sistem biologic.

Una din noțiunile cele mai larg utilizate atît în cadrul acestui capitol, cît și în tot cursul de biofizică este aceea de s i s t e m reprezentînd, în accepțiunea cea mai largă, un ansamblu de componenți aflați în interacțiune. În mod evident, pentru a se comporta ca entitate, interacția (deci legăturile) dintre componenții unui sistem trebuie să fie mai puternică decît cu exteriorul. Toate sistemele luate în considerare în termodinamică sînt macroscopice, adică alcătuite dintr-un număr foarte mare de atomi și molecule — condiție pe care o îndeplinește orice sistem biologic. Din punct de vedere al relațiilor cu mediul extern, sistemele pot fi : *deschise* (schimbă cu exteriorul atît energie radiantă cît și substanțe) ; *închise* (pot schimba cu exteriorul numai energie dar nu și substanțe) ; *izolate* (nu au nici un fel de schimburi cu exteriorul, de care sînt separate prin pereți adiabatici). Sistemul izolat este doar o abstractizare, un caz limită util numai pentru simplificarea unor raționamente, fără ca în natură să existe vreun sistem perfect izolat.

În ceea ce privește sistemele biologice, ele sînt în mod evident deschise, schimburile permanente cu exteriorul fiind indispensabile pentru desfășurarea ansamblului de procese care reprezintă viața.

## 2.1. PRINCIPIILE TERMODINAMICII — LEGI GENERALE ALE NATURII APLICABILE ȘI ÎN LUMEA VIE

Termodinamica este fundamentată pe două principii, la care s-a ajuns prin generalizarea constatărilor experimentale legate de funcționarea mașinilor termice (cu aburi), dar care s-au dovedit imediat legi de maximă generalitate ale naturii.

### 2.1.1. LEGEA CONSERVĂRII ENERGIEI — PRINCIPIUL I AL TERMODINAMICII

În urma eșecurilor suferite de absolut toate tentativele de a construi o mașină care, odată pornită, să funcționeze la nesfîrșit, fără a consuma ceva din exterior („perpetuum mobile"), începînd din secolul al XVIII-lea oamenii de știință au ajuns la concluzia că nu poate fi efectuat un travaliu de un tip oarecare fără să se consume ceva, de exemplu combustibili sau capacitatea de efort a unui organism. În 1755, Academia Franceză a anunțat că va refuza aprioric orice proiect de „perpetuum mobile". În mod vag și neexplicit se contura ideea că, într-un sistem închis, diferitele acțiuni se desfășoară una pe seama alteia, fără să apară sau să dispară ceva, ci numai prin transformarea unei modalități de acțiune în alta. În 1840, H. Hess a formulat, pe baza constatărilor experimentale, regula după care căldura eliberată sau absorbită într-o reacție chimică nu depinde de etapele intermediare prin care poate decurge această reacție, ci numai de starea inițială și cea finală a reactanților.

Între 1842 și 1850, o serie de savanți (J. R. Mayer, J. Joule, H. Helmholtz) au descoperit echivalența lucrului mecanic și a căldurii și au determinat echivalentul mecanic al caloriei. Acestea au dus la formularea principiului conservării energiei, numit și *principiul I al termodinamicii*. Acest principiu arată existența unui parametru caracteristic oricărui sistem, numit *energie internă* a sistemului ($U$), parametru ce exprimă capacitatea totală a sistemului de a efectua acțiuni de orice tip și are o valoare bine determinată în fiecare stare a sistemului.

La scară atomo-moleculară, energia internă a unui sistem reprezintă suma energiilor de mișcare a moleculelor, a energiilor de interacțiune dintre molecule, precum și a energiilor intramoleculare și intraatomice ale tuturor atomilor și moleculelor ce constituie acel sistem. În cazul sistemelor izolate, care nu au nici un fel de schimburi cu exteriorul, energia internă se conservă, diferitele tipuri de energii atomo-moleculare transformîndu-se unul în altul.

Atunci cînd un sistem are schimburi cu exteriorul, energia sa internă variază cu o cantitate egală cu suma tuturor acestor schimburi. Atunci cînd variază energia de mișcare dezordonată (agitație termică) a moleculelor sau energiile de interacțiune (dezordonată) dintre molecule, sistemul schimbă cu exteriorul căldură ($Q$), iar atunci cînd variază energia de mișcare ordonată a unui ansamblu mare de molecule ale sistemului, acesta schimbă cu exteriorul lucru mecanic ($L$), producîndu-se deplasări la scară macroscopică. Evident că, atunci cînd în sistem au loc reacții chimice, variază energia internă, datorită modificărilor intramoleculare care se produc, dar acestea se reflectă în exterior fie prin schimb de lucru me-

canic, fie — cel mai adesea — prin schimb de căldură. Modalitatea cea mai evidentă de transfer de energie între sisteme este prin schimb de substanță, în care caz odată cu transferul de molecule se schimbă și toate formele de energie asociate cu acestea.

Putem rezuma această discuție scriind că variația energiei interne a unui sistem la trecerea dintr-o stare în alta ($\Delta U$) este egală cu suma dintre cantitatea de căldură și toate formele de travaliu (mecanic, chimic, osmotic, adică de concentrare a unor componenți, electric etc.) schimbate de acel sistem cu exteriorul :

$$\Delta U = Q + L_1 + L_2 + \ldots \qquad (2.1)$$

Relația (2.1) reprezintă o formulare generală a principiului I al termodinamicii, din care derivă toate ecuațiile ce descriu bilanțurile energetice ale diferitelor sisteme, în particular, ale organismelor. Convenția uzuală este de a atribui acestor mărimi semnul (+), atunci cînd sistemul considerat primește energie (căldură sau lucru mecanic) din exterior și semnul (—), atunci cînd cedează. Lucrul mecanic efectuat de sistem va apărea deci cu semnul (—).

Înainte de a trece la unele aplicații și implicații biologice concrete ale acestei legi generale a naturii, se impun următoarele două remarci :

*1)* atît căldura, cît și travaliul (mecanic etc.) sînt forme diferite de variație ale aceluiași parametru de stare al sistemelor (energia internă) și, de aceea, se pot transforma reciproc unul în altul și se exprimă ambele în unități de energie (*Joule* : J, cu multiplul kJ = $10^3$ J) ;

*2)* între căldură și lucrul mecanic (de exemplu) este o neechivalență calitativă, deoarece la scară atomo-moleculară căldura exprimă variația energiilor dezordonate, în timp ce lucrul mecanic exprimă variația unei energii ordonate în sens macroscopic ; de aceea, lucrul mecanic se poate transforma integral în căldură prin frecări, în timp ce căldura nu se poate transforma decît parțial în lucru mecanic.

Asupra acestei probleme se va reveni mai pe larg la *2.1.2*, ea reprezentînd, de fapt, punctul de plecare în formularea principiului al II-lea al termodinamicii.

Menționăm, de asemenea, faptul că în exprimarea cantităților de căldură în general și a datelor termochimice în particular, se mai utilizează ca unitate de măsură tolerată *caloria*, reprezentînd căldura necesară pentru creșterea temperaturii unui gram de apă distilată de la 19,5 la 20,5 °C. Relația între unitățile de măsură menționate este : 1 cal = 4,18 J.

Organismele vii sînt sisteme a căror energie internă poate crește sau poate să scadă în funcție de diferite condiții (vîrstă, stare fiziologică etc.). Pentru aplicarea corectă a principiului I al termodinamicii, în cazul organismelor, trebuie să ținem seamă de aspectul fundamental că acestea sînt sisteme deschise, care iau și degajă în exterior energie, astfel încît problema conservării energiei se pune numai pentru sistemul închis, format din organismul respectiv împreună cu mediul său înconjurător.

**Bilanțul energetic al organismului.** Aplicarea principiului I al termodinamicii în cazul unui organism conduce, în mod evident, la formularea următorului bilanț energetic :

*Energia preluată din mediu = Travaliul mecanic efectuat + Căldura degajată + Energia depozitată în rezervele organismului.*

În timp ce animalele poichiloterme pot primi din mediu energie și sub formă de căldură, în cazul homeotermelor toată energia preluată din mediu constă din energia chimică a alimentelor. Din această energie o parte se pierde, rămînînd în „excreta".

Deoarece este extrem de dificil să se măsoare cu precizie toți cei patru termeni din relația (2.2), situația este simplificată lucrînd în condiții în care subiectul este în repaus, deci nu efectuează travaliu mecanic și nu a mîncat de cel puțin 12 ore, adică nu preia energie din mediu. În aceste condiții :

$$Căldura\ degajată + Energia\ depozitată = 0,$$

ceea ce înseamnă că organismul degajă căldură pe seama propriilor sale rezerve energetice, care sînt diminuate prin utilizare :

$$Căldura\ degajată = -Energia\ depozitată = Energia\ utilizată.$$

Determinarea producerii de căldură în organismul uman, în condițiile limită menționate, constituie testul clinic al intensității metabolismului bazal prin care se stabilește valoarea de referință față de care să fie raportat efectul diferiților factori ce influențează metabolismul energetic.

### 2.1.2. LEGEA CREȘTERII ENTROPIEI — PRINCIPIUL II AL TERMODINAMICII

Principiul II al termodinamicii generalizează constatarea practică a imposibilității ca o mașină termică să transforme integral o cantitate de căldură în lucru mecanic, randamentul de transformare fiind întotdeauna subunitar.

Atunci cînd un sistem efectuează travaliu (mecanic, electric etc.) micșorîndu-și energia internă cu o cantitate $\Delta U$, lucrul mecanic efectuat, — $L$, este întotdeauna mai mic decît $\Delta U$, deoarece o parte din energia internă trece în căldură ($Q$). Această „degradare" de energie este egală cu produsul dintre temperatura absolută $T$ a sistemului și creșterea $\Delta S$ a unui parametru de stare $S$, numit entropia sistemului. Astfel, principiul II al termodinamicii introduce un nou parametru ce caracterizează starea sistemelor — entropia —, a cărui particularitate este că, prin orice proces spontan, crește. Dacă sistemul este izolat entropia sa crește în timp, evoluția sistemului fiind către starea de entropie maximă în care toată energia internă a sistemului a fost degradată pînă la căldură, nemaiputînd fi convertită într-o formă de travaliu util.

Din cele de mai sus rezultă că, din energia internă $U$ a unui sistem, poate fi integral convertită în travaliu numai o parte :

$$F = U - T \cdot S. \tag{2.2}$$

Aceasta este energia liberă a sistemului și ea exprimă capacitatea efectivă a acestuia de a efectua diferite acțiuni. În sistemele izolate, în care energia internă $U$ este constantă, creșterea entropiei implică în mod evident scăderea energiei libere :

$$\Delta F = -T \cdot \Delta S < O, \text{ deoarece } \Delta S > O. \tag{2.2'}$$

Aceste relații constituie diferite formulări ale principiului II al termodinamicii.

În mod practic, variația energiei interne în cursul transformărilor chimice poate fi măsurată prin intermediul schimbului de căldură al sistemului considerat cu exteriorul, atunci cînd nu efectuează nici un lucru mecanic, volumul său rămînînd constant. Pentru procesele care au loc în atmosferă liberă, așa cum sînt în sistemele biologice, presiunea este constantă (condiții izobare). În acest caz, în locul energiei interne $U$ se introduce mărimea numită e n t a l p i e ($H$), care este suma dintre energia internă a sistemului și produsul dintre presiune ($p$) și volum ($V$) : $H = U + p \cdot V$.

Variația entalpiei este :

$$\Delta H = \Delta U + p \cdot \Delta V + V \cdot \Delta p$$

Termenul $p \cdot \Delta V$ este lucrul mecanic efectuat de sistem — $L$, iar pe baza relației (2.1) : $\Delta U + p \cdot \Delta V = Q$. Deci :

$$\Delta H = Q + V \cdot \Delta p,$$

iar în condiții izobare, cînd $\Delta p = O$,

$$\Delta H = Q.$$

Se vede, deci, că determinările calorimetrice efectuate în condiții izobare, de exemplu în atmosferă liberă, dau variația de entalpie a sistemului.

În sfîrșit, parametrul de stare ce dă capacitatea reală a unui sistem de a efectua travaliu la presiune constantă este *entalpia liberă* ($G$), numită și „energie liberă Gibbs". Analog relației (2.2) :

$$G = H - T \cdot S.$$

Parametrii termodinamici definiți în acest paragraf : *energia* ($U$), *energia liberă* ($F$), *entalpia* ($H$), *entalpia liberă* ($G$) și *entropia* ($S$) sînt concepte de cea mai largă utilizare pentru a caracteriza starea și transformările din orice sistem, în particular din sistemele biologice și ecologice. Aplicarea principiului I al termodinamicii la studiul organismelor (în mod evident și al ecosistemelor) nu a ridicat vreo problemă deosebită, fiind clar că și în acestea diferitele forme de energie se transformă unele în altele în raporturi bine definite. Pe de altă parte, utilizarea conceptului de entropie, introdus de principiul II al termodinamicii, a prilejuit confuzii și a generat dispute, însuși conținutul fizic al acestei noțiuni fiind mai dificil de înțeles.

## 2.2. ENTROPIE ȘI ORDINE

L. B o l t z m a n n a arătat că entropia exprimă în mod nemijlocit alcătuirea atomo-moleculară a sistemului, și anume gradul de ordonare a ansamblului de particule din care este alcătuit. Astfel, dacă sînt $N$ parti-

cule identice (atomi, molecule) distribuite pe $M$ nivele energetice distincte, cîte $N_i$ pe fiecare nivel, atunci entropia acestui ansamblu este :

$$S = -k \sum_{i=1}^{M} \frac{N_i}{N} \cdot \ln\left(\frac{N_i}{N}\right),$$

unde $k = 1{,}38 \times 10^{-23}$ J/K este o constantă fizică universală, iar suma numerelor $N_i$ este în mod evident egală cu numărul ($N$) total de particule. Raportul $N_i/N$ reprezintă probabilitatea ($p_i$) de ocupare a stării (nivelului energetic) $i$, așa încît entropia este :

$$S = -k \cdot \sum_i p_i \cdot \ln (p_i) \qquad (2.3)$$

(Suma probabilităților $p_i$ este întotdeauna 1).

Cînd sistemul este foarte ordonat sînt posibile doar puține stări, fiind numai cîteva probabilități diferite de zero, iar $S$ are valoare mică, iar atunci cînd în sistem particulele sînt distribuite haotic ele se vor repartiza uniform pe toate nivelele energetice, entropia $S$ avînd valoare maximă. Astfel, se poate verifica ușor că pentru un sistem perfect ordonat, ale cărui particule sînt toate în aceeași stare : $i = 1$ și $S = -k \cdot \ln\left(\frac{N}{N}\right) = 0$. Dacă sistemul este perfect dezordonat, fiecare particulă este într-o stare distinctă de celelalte, așa încît : $N_1 = N_2 = \ldots N_N = 1$. În acest caz, entropia are valoarea maximă : $S = k \cdot \ln N$.

Deci, sensul fizic al noțiunii de „entropie" este acela de măsură a ordinii atomo-moleculare din sistem, a gradului său de organizare : cu cît sistemul este mai bine structurat, cu atît entropia sa este mai mică. Cu această accepțiune, de *indice al ordonării unui sistem*, noțiunea de entropie este larg utilizată în diferite domenii ale științelor naturii.

Imediat după formularea principiului creșterii entropiei, considerat valabil pentru orice procese, a fost remarcată comportarea diametral opusă a organismelor și a lumii vii în ansamblu, a căror evoluție este în sensul creșterii complexității structurale și a diversificării funcțiilor, deci a scăderii entropiei. Se părea că principiul II nu descrie corect situația organismelor vii care, cel puțin o parte a vieții, își dezvoltă și își complică structura, sintetizînd macromolecule complexe și organizîndu-le într-o arhitectură supramoleculară bine definită. În prezent, este clar că formularea „orice proces natural determină creșterea entropiei sistemului în care se produce" este aplicabilă numai sistemelor izolate, în timp ce organismele vii sînt în mod definitoriu sisteme deschise, a căror existență este de neconceput fără permanente schimburi de materie cu exteriorul.

Entropia sistemelor deschise poate și să scadă, dacă ele cedează în mediul extern entropie. Cunoscutul fizician E. Schrödinger a dat formularea devenită celebră după care organismele vii „evită" creșterea entropiei lor, preluînd din mediul extern entropie negativă — negentropie. Într-un mod mai concret, aceasta exprimă faptul că organismele primesc continuu energie liberă (utilizabilă) din exterior fie sub forma energiei chimice stocată în alimente (în cazul animalelor), fie ca energie liberă radiantă (în cazul plantelor fotosintetizante) și că elimină în ecosistemul respectiv „deșeurile" activității lor metabolice : produșii de dezasimilație și căldura.

## 2.3. FLUXURILE DE ENERGIE LIBERĂ ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

Transformările de energie ce au loc la nivelul întregii biosfere pot fi împărțite în trei etape principale :

*1)* captarea energiei radiante a luminii solare și stocarea ei sub formă de energie chimică de către producătorii primari (plantele fotosintetizatoare), capabili să utilizeze energia radiantă pentru a sintetiza compuși organici macromoleculari din molecule mici anorganice ;

*2)* eliberarea în cadrul metabolismului energetic al heterotrofelor a energiei chimice din alimente și înmagazinarea ei tot ca energie chimică, dar sub o formă care să poată fi utilizată direct în diverse funcții, adică sinteza compușilor fosfatici macroergici în procesul fosforilării oxidative ;

*3)* hidroliza compușilor macroergici și utilizarea energiei rezultate pentru efectuarea diferitelor forme de travaliu implicate de funcționarea organismelor.

Toate aceste etape sînt studiate din punct de vedere al mecanismelor lor în cadrul bioenergeticii.

### 2.3.1. CAPTAREA ENERGIEI LIBERE A LUMINII SOLARE

Radiația solară reprezintă în mod efectiv unica sursă primară de energie liberă pentru întreaga biosferă, deoarece organismele autotrofe chimiosintetice care obțin energia metabolică prin oxidarea (aerobă sau anaerobă) unor substanțe minerale, fără să utilizeze energia solară, au o pondere absolut neglijabilă în ansamblul biosferei, fiind numai cîteva genuri de bacterii.

Fluxul de energie radiantă solară incident pe atmosfera terestră este de $1{,}34 \times 10^{24}$ cal/an, din care numai aproximativ 4% este absorbită de pigmenții fotosintetici ai plantelor. Știind că, anual, prin fotosinteză, este fixată din $CO_2$ atmosferic o cantitate netă de aproximativ $5 \times 10^{16}$ g de carbon [1] și că prin încorporarea în hidrați de carbon a 1 mol de carbon se stochează o energie liberă de 114 kcal, rezultă că și din energia absorbită de pigmenții fotosintetici numai 1% este finalimente stocată în biomasă vegetală. În ansamblu deci, aproximativ 0,04% din energia solară incidentă pe suprafața atmosferei este stocată în produșii fotosintezei pe ansamblul biosferei. Această valoare foarte scăzută caracterizează nu atît randamentul de conversie a energiei în procesul fotosintezei, ci mai ales modul de încadrare a biosferei în energetica „cosmică" a Terrei, deoarece din radiația incidentă la limita superioară a atmosferei o mare parte este absorbită de componenții atmosferei, ajungînd la suprafața Pămîntului ca radiații infraroșii inutilizabile în fotosinteză. Chiar din lumina ce a traversat atmosfera, o mare parte revine zonelor de „deșert biologic" (calotele polare, zonele aride etc.), astfel încît, pentru a caracteriza randamentul fotosintezei, trebuie raportată energia chimică stocată în hidrații de carbon la energia radiantă efectiv incidentă pe plantele fotosintetizante.

[1] Această valoare depășește de aproximativ 100 ori producția mondială de cărbune.

În condiții ideale, o recoltă cu creștere rapidă poate stoca, prin fotosinteză, pînă la 7% din energia solară incidentă, dar făcînd media pe întreaga perioadă a anului randamentul este de 0,5—1%. Deși această valoare a randamentului energetic al fotosintezei este de peste 10 ori mai mare decît eficiența „cosmică" la care ne-am referit anterior, la rîndul ei este de zeci de ori mai mică decît randamentul ce poate fi atins în laborator. Astfel, dacă se iluminează direct cloroplaștii cu radiația roșie ($\lambda = 680$ nm) pentru care pigmenții fotosintetici prezintă maxim de absorbție, randamentul fotosintezei este de $\approx 34\%$.

Obiectivul citării acestor date este de a contura în mod cantitativ problema captării de energie liberă de către biosferă, prin intermediul producătorilor primari. Pentru a ilustra diferențele mari existente între diferitele tipuri de ecosisteme în ceea ce privește intensitatea producției primare, în tabelul următor dăm valorile energiei libere stocate în biomasă vegetală, pentru trei ecosisteme foarte semnificative (tab. 2.1).

*Tabelul 2.1*

**Captarea de energie prin fotosinteză în diferite ecosisteme**

| Ecosistemul | Suprafața | Cantitatea de carbon fixat (t/an) | Cantitatea de energie stocată în biomasa producătorilor primari (kcal/an) |
|---|---|---|---|
| Biosfera | — | $5 \times 10^{10}$ | $4{,}75 \times 10^{17}$ |
| Teren cultivat intensiv (cartofi, cereale) | 1 km² | 150 | $1{,}4 \times 10^{9}$ |
| Pădure matură | 1 km² | 250 | $2{,}4 \times 10^{9}$ |
| Planctonul din ocean | 1 km² | 45 | $0{,}4 \times 10^{9}$ |

Energia chimică stocată în biomasa producătorilor primari se distribuie tuturor componenților biocenozei, datorită multiplelor interacții dintre aceștia. Cea mai semnificativă din punct de vedere energetic este „prădarea", adică consumul biomasei unui organism de către un altul, care eliberează astfel pentru nevoile sale energia chimică din biomasa organismului consumat.

### 2.3.2. ENERGIA STOCATĂ ÎN ALIMENTE

Energia chimică din alimente este mobilizată prin reacțiile metabolice oxidative, ceea ce permite ca valoarea energetică a alimentelor să fie determinată prin măsurători calorimetrice care dau, așa cum s-a arătat la *2.1.2*, variația de entalpie. Entalpia, rezultă din combustia unei biomase oarecare, depinde de compoziția acesteia, adică de proporțiile de proteine, lipide și glucide existente în acea biomasă. Notînd cu $f_{prot}$, $f_{lip}$ și $f_{gl}$ fracțiunile corespunzătoare din aceste substanțe existente în unitatea de masă și cu $H_{prot}$, $H_{lip}$ și $H_{gl}$ variațiile de entalpie la combustia unității de masă din respectivele substanțe, se poate scrie :

$$H = H_{prot} \cdot f_{prot} + H_{lip} \cdot f_{lip} + H_{gl} \cdot f_{gl}.$$

Dacă ne referim la biomasa uscată, compusă numai din proteine, lipide și glucide, atunci în mod evident :

$$f_{prot}+f_{lip}+f_{gl}=1,$$

deci putem elimina din formula entalpiei $f_{gl}$ :

$$H=H_{prot}\cdot f_{prot}+H_{lip}\cdot f_{lip}+H_{gl}\,(1-f_{prot}-f_{lip}).$$

Mediindu-se valorile obținute pentru proteine, lipide și glucide provenite din tipuri foarte diferite de biomasă, atît vegetală cît și animală, se poate admite, în mod aproximativ :

$$\Delta H_{prot}=5{,}5\ \text{kcal/g}\ ;\ \Delta H_{lip}=9{,}3\ \text{kcal/g}\ ;\ \Delta H_{gl}=4{,}1\ \text{kcal/g},$$

astfel încît :

$$H=5{,}5\cdot f_{prot}+9{,}3\cdot f_{lip}+4{,}1\ (1-f_{prot}-f_{lip})\ \text{kcal/g}.$$

În afara utilității practice de a permite calculul valorii energetice pe baza cunoașterii compoziției unei biomase oarecare, această relație poate arăta și diferențele existente din acest punct de vedere între plante și animale și, deci, cheltuirea de energie la trecerea biomasei de la producătorii primari la animale (consumatori). Reprezentînd pe cele două axe fracțiunile de lipide și de proteine (fig. 2.1), liniile paralele exprimă compozițiile pentru care valoarea energetică a biomasei este cea înscrisă pe respectiva linie. Toate punctele de pe dreapta ce unește $f_{lip}=1$ cu $f_{prot}=1$ corespund absenței complete a glucidelor, biomasa animalelor situîndu-se în vecinătatea acestei linii, datorită conținutului foarte scăzut în glucide.

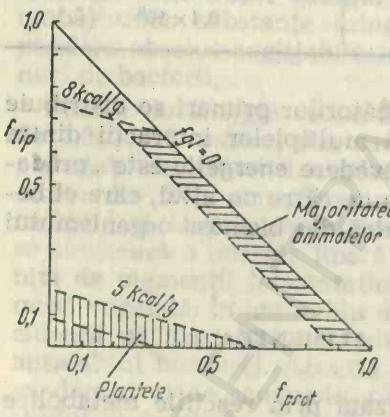



Fig. 2.1. Corelația între compoziția și echivalentul energetic al biomasei. Valorile se referă la substanța uscată.

Se poate observa că domeniul în care este plasat primul nivel trofic este diferit față de cel în care se situează animalele.

Energia rezultată în organismul prădător, din utilizarea biomasei prăzii, servește în mare parte pentru întreținere și reînnoirea organismului (metabolismul bazal), ca și pentru diferitele sale activități (locomoție etc.), așa încît numai o mică parte este restocată în biomasă.

Deoarece, la rîndul său, un prădător poate fi consumat de un prădător secundar, este clar că, pe măsura avansării într-un lanț trofic, disponibilitățile energetice devin din ce în ce mai mici. Eficiența ecologică (definită ca raportul dintre energia furnizată ca biomasă de către un nivel trofic următorului și energia biomasei consumată de el din nivelul trofic precedent) s-a dovedit a fi în toate cazurile în jur de 10%.

Reducerea de 10 ori a energiei disponibile ca hrană, la trecerea de la un nivel trofic la următorul, face ca cel mai adesea lanțurile trofice să

cuprindă maximum 4 nivele, un lanț cu 5 nivele apărînd doar ca excepție, iar lanțuri mai lungi neexistînd.

Problema disponibilităților energetice alimentare se menține acută pentru om, foametea fiind un flagel endemic de maximă gravitate pentru o mare parte din omenire. Fără a aborda în acest context aspectele și cauzele social-politice ale acestei situații, vom remarca unele clarificări esențiale pe care le aduce energetica ecologică. La un consum zilnic de 2 400 kcal pentru hrana unui om, o populație mondială de circa 4,5 miliarde consumă anual numai pentru hrană $4 \cdot 10^{15}$ kcal, ceea ce înseamnă aproape 1% din întreaga energie stocată în produși vegetali prin fotosinteză de către toată biosfera. Cum însă omul utilizează plantele și pentru alte scopuri (țesături, hîrtie etc.) și, pe de altă parte, el nu este erbivor, simplul consum de hrană al omenirii actuale înseamnă o „sarcină" considerabilă pentru biosferă. Concluzia practică ce se impune (aparte de aspectele social-politice vizînd producția și repartiția) este că trebuie scurtate pe cît posibil lanțurile trofice de care omul depinde și trebuie căutate speciile care să fie convertizori optimi de energie.

Rezumînd problematica acestui paragraf, este de reținut faptul că toate organismele își desfășoară viața numai utilizînd energia liberă pe care o convertesc în diferite forme de travaliu sau o stochează în propria lor biomasă, în mod evident aceste transformări asociindu-se cu o degradare a unei părți din energia liberă sub formă de căldură, adică cu o producere de entropie. Forma primară de energie liberă, disponibilă pentru toată biosfera, este radiația electromagnetică din spectrul vizibil al luminii solare. Numai plantele fotosintetizatoare pot converti energia electromagnetică în energie chimică, aceasta fiind apoi unica formă de transfer a energiei libere între toate nivelele trofice ulterioare.

## 2.4. IREVERSIBILITATEA PROCESELOR BIOLOGICE

Termodinamica clasică se ocupă cu relațiile existente între parametrii unui sistem atunci cînd acesta se găsește în stare de echilibru termodinamic, deci cînd nu se desfășoară nici un fel de proces sau atunci cînd sistemul trece printr-o succesiune continuă de stări de echilibru, suferind o transformare reversibilă. Dar procesele reversibile reprezintă doar o noțiune ideală, o abstractizare ce nu își poate găsi decît corespondențe aproximative în natură. În particular, toate sistemele biologice sînt „deschise", avînd loc permanente schimburi de substanțe și energie cu exteriorul, iar aceste fluxuri sînt în mod esențial procese ireversibile. Însăși evoluția unidirecțională, de la naștere către moarte, a oricărui organism face lipsit de sens să se considere în biologie procese reversibile. Datorită acestui fapt, aplicarea efectivă în biologie a termodinamicii a fost posibilă numai după apariția în ultimele decenii a termodinamicii proceselor ireversibile, dezvoltată în mare parte prin rezolvarea problemelor de natură biofizică.

Pentru sistemele în care au loc procese reversibile, variația entropiei este determinată numai de schimbul de căldură cu exteriorul. În cazul unui astfel de proces reversibil elementar (infinitezimal), ea este :

$$dS = \left[\frac{dQ}{T}\right]_{rev} \qquad \text{(v.2.1.2.)}$$

Dacă ne referim la procesele ireversibile (reale), variația entropiei sistemului este întotdeauna mai mare decît cea produsă de schimbul de căldură :

$$dS > \left(\frac{dQ}{T}\right)_{irev}.$$

Putem defini, astfel, o cantitate de căldură $d\bar{Q}$ ce a rezultat în sistem prin degradarea energiei libere (datorită faptului că au loc procese ireversibile), care este întotdeauna pozitivă și se adaugă la căldura schimbată cu exteriorul :

$$dS = \left(\frac{dQ}{T}\right)_{irev} + \frac{d\bar{Q}}{T}; \quad d\bar{Q} > 0.$$

Variația infinitezimală $dS$ a entropiei unui sistem în care au loc procese ireversibile constă, deci, din schimbul de entropie cu exteriorul, $d_eS$, datorită schimburilor de căldură $(dQ)_{irev}$ și din producerea de entropie în sistem, $d_iS$, datorită ireversibilității proceselor care au loc în el $(d\bar{Q})$ :

$$dS = d_eS + d_iS, \text{ cu condiția : } d_iS > 0. \tag{2.4}$$

Intensitatea producerii de entropie în unitatea de timp exprimă viteza de scădere a energiei libere a sistemului, în urma degradării ei de către procesele ireversibile. Această intensitate se notează cu $\Phi$ și se numește *„funcția de disipare" a lui Rayleigh*. Conform definiției date mai sus, în condiții izoterm-izobare :

$$\Phi = -\frac{d_iG}{dt} = -\frac{d_i}{dt}(H - T \cdot S) = T \cdot \frac{d_iS}{dt}, \tag{2.5}$$

adică intensitatea disipării de energie liberă este produsul dintre temperatură și viteza de creștere a entropiei sistemului.

În sistemele fizice, orice proces constă din trecerea fie a unei cantități de substanță, fie de căldură, fie de electricitate de la o regiune la alta a unui sistem, deci constă din fluxurile de componenți : $J_1, J_2, \ldots$, de căldură : $J_q$, de electricitate $J_e$, aceste fluxuri reprezentînd variația în unitatea de timp respectiv a cantităților de substanțe, a cantității de căldură și de electricitate din unitatea de volum a sistemului considerat. Fluxurile sînt determinate de existența unor gradienți (diferențe) de concentrații, de temperatură și de potențial electric între diferitele regiuni ale sistemului. Acești gradienți, care sînt cauza fluxurilor, sînt desemnați drept „forțe" în sens termodinamic generalizat și se notează cu : $X_1, X_2, \ldots, X_q, X_e$.

Un alt gen de procese ireversibile sînt reacțiile chimice pentru care fluxul este reprezentat chiar de viteza reacției chimice, iar forța care îl determină este afinitatea reacției. Ne-am referit la aceste mărimi, deoarece se demonstrează că intensitatea disipării de energie liberă în sistem este suma produselor dintre fluxurile și forțele conjugate corespunzătoare tuturor proceselor :

$$\Phi = J_1 \cdot X_1 + J_2 \cdot X_2 + \ldots + J_n \cdot X_n. \tag{2.6}$$

Importanța deosebită a funcției de disipare $\Phi$ constă în aceea că ea permite precizarea modului în care evoluează în timp sistemele, iar o astfel de analiză este foarte semnificativă pentru biologie.

## 2.5. STĂRI STAȚIONARE ȘI PROCESE CUPLATE ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

Întotdeauna existența unei forțe determină apariția unui flux care tinde să o anuleze. Astfel, un gradient de temperatură determină un flux de căldură de la temperatura superioară la cea inferioară, pînă cînd acestea se egalează și gradientul dispare. Cînd într-un sistem care evoluează spontan (fără intervenții din exterior), adică un sistem izolat, există la un moment dat mai multe forțe, în el se vor produce fluxurile corespunzătoare pînă cînd toate forțele devin nule. Aceasta este starea de *echilibru termodinamic* în care, încetînd toate procesele din sistem $(J_1 = J_2 = \ldots = 0)_{echilibru}$, a încetat și producerea de entropie : $\Phi_{echilibru} = 0$, iar valoarea entropiei devine și se menține maximă.

Cînd însă un sistem deschis nu este lăsat să evolueze spontan ci prin intervenția unor cauze externe anumite forțe din sistem sînt menținute la valori constante, sistemul nu va putea ajunge în starea de echilibru, deci disiparea de energie și producerea de entropie nu sînt zero, dar au valoarea minimă posibilă în condițiile date. Aceasta este starea staționară, numită uneori și starea de *echilibru dinamic*, în care toate caracteristicile sistemului, deci și entropia, sînt constante în timp :

$$S_{staționar} = \text{constant, adică : } \frac{dS_{staționar}}{dt} = 0.$$

Cum însă : $\frac{dS}{dt} = \frac{d_e S}{dt} + \frac{d_i S}{dt}$ rezultă :

$$\frac{d_e S_{staționar}}{dt} = -\frac{d_i S_{staționar}}{dt},$$

adică : un sistem aflat în stare staționară elimină în exterior toată entropia ce se produce prin procesele ireversibile ce au loc în el, entropia sa rămînînd astfel constantă.

Principiul lui Le Chatelier arată că stările de echilibru sînt stabile față de perturbațiile mici. I. Prigogine a demonstrat că și stările staționare au această proprietate : atunci cînd apare o perturbație (care însă nu trebuie să modifice condițiile definitorii ale stării staționare, adică forțele menținute constante), în sistem ia naștere un flux care tinde să anuleze perturbația și să-l readucă în starea staționară anterioară.

Conceptele și cele cîteva rezultate prezentate aici ale termodinamicii proceselor ireversibile au fost stabilite în mod riguros pentru sistemele simple fizico-chimice, dar ele sînt deosebit de edificatoare și în ceea ce privește evoluția în timp atît a organismelor, cît și a ecosistemelor. Astfel, dezvoltarea oricărui organism se produce sub acțiunea anumitor cauze fizico-chimice externe. Valorile acestora se modifică brusc la naștere, rămînînd apoi practic constante, adică între anumite limite „tolerabile". Organismul poate fi considerat un sistem pentru care unele forțe termodinamice sînt menținute constante, el evoluînd pe măsura maturizării către o stare aproximativ staționară. În această stare, caracteristicile sale (greutatea etc.) se mențin constante și el prezintă un maxim de rezistență (stabilitate) față de factorii perturbatori externi. Ca urmare a faptului că parametrii mediului terestru variază mult mai amplu decît ai celui acvatic, pentru ca mediul nemijlocit al funcțiilor celulare să aibă caracteristici

staționare, s-au dezvoltat mecanismele homeostatice prin care organismul își menține, cu consum de energie metabolică, parametrii constanți ai mediului său interior.

Principiul II al termodinamicii arată că, prin procesele care au loc, în orice sistem se produce entropie :

$$d_i S > 0$$

Este însă posibil ca în același sistem să se desfășoare simultan mai multe procese, dintre care unele pot determina scăderea entropiei : $d_i S^{(1)} < 0$, dar cu condiția ca altele să crească entropia : $d_i S^{(2)} > 0$, astfel încît, în ansamblu, să fie o producere, nu un consum de entropie :

$$d_i S^{(1)} + d_i S^{(2)} > 0.$$

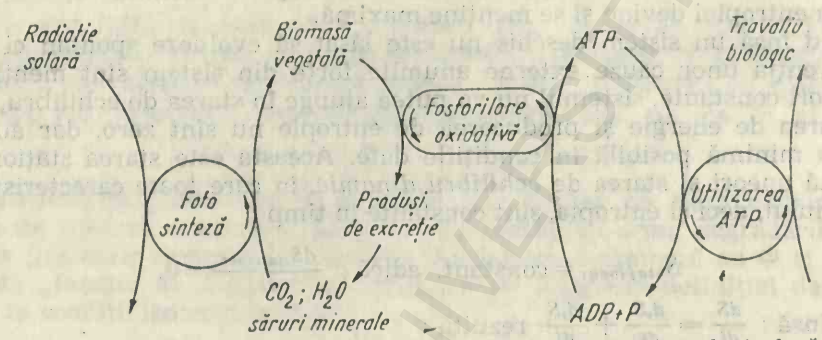



Fig. 2.2. Cuplajul între procesele producătoare (sensul descendent al săgeților) și cele consumatoare de entropie în sistemele biologice.

Procesele prin care entropia crește se numesc *procese cuplante*, iar cele prin care entropia scade sînt *procese cuplate*, existența cuplajelor explicînd de ce o serie de fenomene biologice se desfășoară în sens antientropic. Toate fenomenele de biosinteză a unor compuși complecși și de asamblare a acestora în cursul morfogenezei și creșterii organismelor sînt procese cuplate, consumatoare de entropie, care se desfășoară pe seama reacțiilor catabolice (cuplante) producătoare de entropie. Existența oricărui sistem biologic implică o lungă serie de procese cuplate de tipul celor schematizate în figura 2.2.

Existența proceselor cuplate decurge, în ultimă instanță, din structura atomo-moleculară a materiei, reflectată în faptul că aceleași microobiecte (molecule, atomi sau particule) participă atît la fenomenele de transport de substanțe, cît și de energie (căldură), de sarcină electrică, precum și la transformările chimice. Astfel, dacă într-o incintă cu gaz există un gradient de temperatură, deci o forță termodinamică $X_q$, se va produce un flux de căldură $J_q$ ce tinde să anuleze $X_q$. Fluxul de căldură înseamnă însă un transfer al energiei de agitație termică a moleculelor, transfer care implică și deplasări ale moleculelor. Odată cu $J_q$ se produce deci și un flux de substanță $J_1$ care creează un gradient de densitate, deci dă naștere unei forțe $X_1$ ce va tinde să producă fluxuri în sens invers. În fizică sînt cunoscute și studiate numeroase exemple de cuplaje simple de genul termodifuziei, la care ne-am referit : efecte termoelectrice, electrodifuzie etc.

Generalizînd concluziile care rezultă din studiul proceselor cuplate, se poate afirma că un anumit flux $J_i$ dintr-un sistem nu depinde numai de forța $X_i$ cu care

este conjugat, ci și de celelalte forțe $X_{k\neq i}$ existente în sistem. Atunci cînd aceste forțe nu au valori mari, adică în stări apropiate de echilibru, dependența dintre fluxuri și forțe este liniară :

$$J_i = \sum_{k=1}^{n} L_{ik} X_k \quad (i=1, 2, \ldots, n) \tag{2.7}$$

coeficienții $L_{ik}$ fiind niște constante ce caracterizează sistemul respectiv.

Relațiile (2.7) se numesc *ecuații fenomenologice liniare* și exprimă o serie de legi simple stabilite experimental, ca de exemplu *legea lui Ohm*, care arată proporționalitatea dintre curentul electric printr-un conductor și diferența de potențial electric ce produce acest curent ; *legea lui Fourier*, care arată proporționalitatea dintre fluxul de căldură și diferența de temperatură care îl provoacă ; *legea lui Fick*, ce exprimă proporționalitatea dintre un flux de difuzie al unei substanțe și diferența ei de concentrație între două puncte etc.

Din relațiile (2.7) se poate vedea că $L_{ik}$ sînt definiți drept variația fluxului $J_i$ pentru o variație unitară a forței $X_k$, atunci cînd celelalte forțe nu variază :

$$L_{ik} = (\partial J_i / \partial X_k)_{X_{l\neq k}}.$$

Semnificația acestor coeficienți fenomenologici este aceea de conductanțe sau *permeabilități* în sens generalizat.

Ecuațiile fenomenologice pot fi explicate și în raport cu forțele din sistem :

$$X_i = \sum_{k=1}^{n} R_{ik} J_k \quad (i=1, 2, \ldots, n), \tag{2.7'}$$

în acest caz apărînd coeficienții fenomenologici $R_{ik}$, cu semnificație de *rezistențe* generalizate.

Descrierea completă a unui ansamblu de $n$ procese ireversibile liniare revine la cunoașterea tuturor coeficienților fenomenologici $L_{ik}$ ce apar în ecuațiile care leagă fluxurile de forțe. Numărul acestor coeficienți fenomenologici este aparent egal cu $n^2$, fiind în realitate mai mic datorită valabilității generale a două principii :

*Principiul lui Onsager* afirmă că variația relativă a fluxului $i$ în raport cu forța $k$ este egală cu aceea a fluxului $k$ în raport cu forța $i$ :

$$(\partial J_i / \partial X_k) = (\partial J_k / \partial X_i), \text{ deci : } L_{ik} = L_{ki}.$$

*Principiul lui Curie* afirmă (într-o formulare simplificată) că, în orice sistem omogen, forțe scalare nu pot genera fluxuri vectoriale. Astfel, o reacție chimică (proces scalar) nu se poate cupla cu un fenomen vectorial de transport.

Trebuie remarcat însă că sistemele biologice sînt în mod evident neomogene, datorită structurii lor complexe, așa încît, în cazul lor, *este posibil* cuplajul între reacții chimice și diferite fenomene vectoriale.

## 2.6. PROBLEMELE BIOENERGETICII CELULARE

Viața oricărui organism constă dintr-o multitudine de procese elementare a căror desfășurare implică permanente și variate schimburi energetice. Deoarece unitatea morfo-funcțională a tuturor organismelor este

celula, aspectele esențiale ale bioenergeticii sînt la nivel celular (v. *Capit. 7*).

Figura 2.3 este o schemă de ansamblu a principalelor procese de captare, conversie și utilizare a energiei în celulele vii, procese a căror studiere detaliată constituie în principal obiectul altor cursuri. Mecanismele biofi-

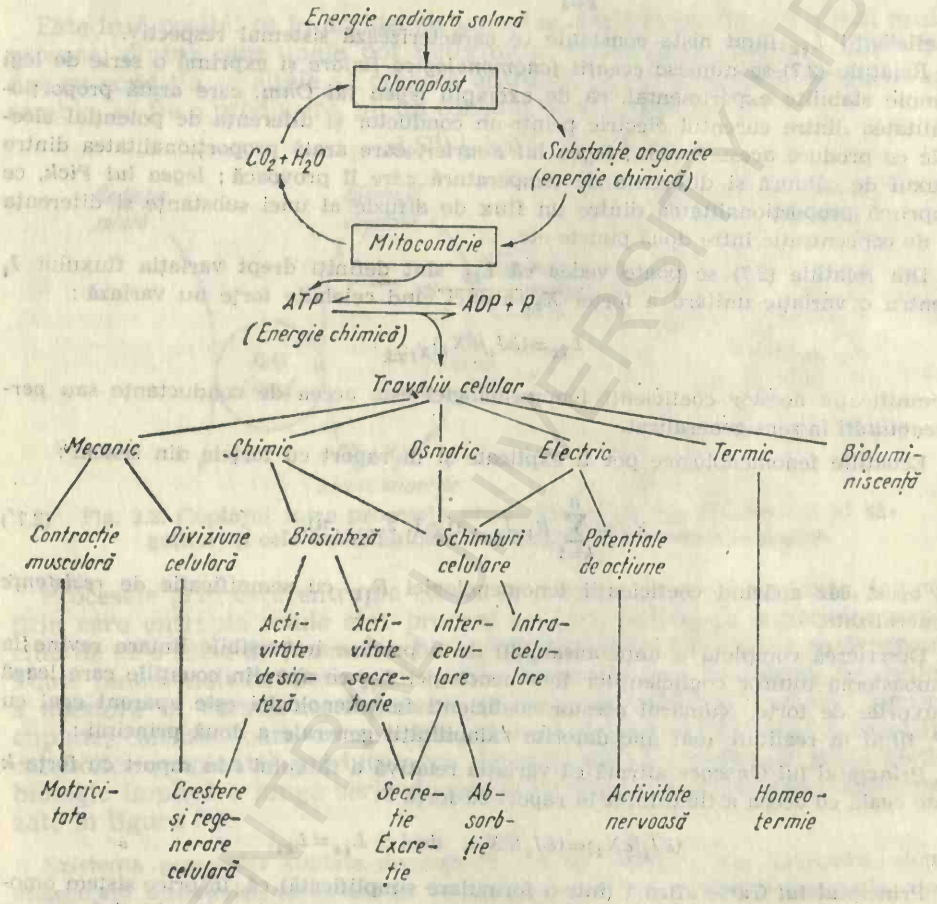



Fig. 2.3. Principalele conversii în bioenergetica celulară și funcțiile fiziologice la care contribuie.

zice ale unora dintre activitățile celulare sînt discutate mai pe larg în capitolele VII—IX, însă, referitor la toate etapele energeticii celulare, se pot formula următoarele caracteristici de bază :

1. Realizarea oricărei conversii de energie în celule se face prin procese cuplate, care la scară atomo-moleculară implică excitări și dezexcitări moleculare.

2. Aceste procese sînt localizate în *structuri* celulare *foarte ordonate* (de obicei formațiuni membranare, ca în mitocondrie și cloroplast sau filamentoase, ca în sarcomer) ; existența cadrului structurat face posibil cuplajul reacțiilor chimice cu fenomenele de transport.

3. Transformările moleculare sînt *catalizate enzimatic*, astfel că procesele bioenergetice au loc la *temperaturi mici* (comparativ cu acelea din orice mașină termică).

4. Captarea și eliberarea energiei se face *în trepte*, astfel că se desfășoară la *temperatură constantă*.

5. Ca o consecință a acestor proprietăți, toată multitudinea de conversii energetice din celule se desfășoară *cu randamente mari* (în jur de 50% atît în fotosinteză, cît și în fosforilarea oxidativă).

## 2.7. SISTEMELE BIOLOGICE CA STRUCTURI DISIPATIVE

Sistemele biologice sînt caracterizate de un grad înalt de ordonare, atît din punct de vedere al structurii în sensul dispunerii spațiale a componenților, cît și al succesiunii temporare a proceselor care au loc în ele. Într-un organism care se dezvoltă, la fel ca și într-un ecosistem care se dezvoltă, are loc o scădere a entropiei, pe măsură ce o cantitate tot mai mare de substanțe anorganice cu molecule mici se transformă în biomasă, și aceasta este din ce în ce mai diversificată calitativ.

Termodinamica proceselor ireversibile poate explica scăderea entropiei într-un sistem deschis, dacă acesta elimină în mediul extern o cantitate de entropie mai mare decît aceea generată de procesele din interiorul său. Pe măsura scăderii entropiei se produce o structurare din ce în ce mai avansată a sistemului. După modul de apariție și după felul în care se mențin, se pot distinge :

1) *structuri de echilibru*, de tipul cristalelor, apărute prin scăderea entropiei pe măsura scăderii temperaturii ; odată apărute, structurile de echilibru se pot menține în mod nedefinit, fără nici un schimb de energie sau de substanțe cu exteriorul ;

2) *structuri disipative*, care apar și se mențin numai în condițiile unui schimb continuu de energie (și uneori de substanțe) cu exteriorul ; așa cum arată și numele lor, aceste structuri pot exista numai pe seama unei disipări permanente de energie.

Se cunosc numeroase exemple simple de structuri disipative. Astfel, un gradient de concentrație poate fi menținut de un flux de căldură sau pot apărea chiar structurări bruște, discontinui, așa cum se întîmplă în hidrodinamică, atunci cînd un flux de căldură ce depășește o anumită valoare limită (de prag) provoacă curenți de convecție care structurează lichidul. Această structurare durează și este stabilă numai atîta timp cît fluxul de energie (căldura) ce traversează lichidul este superior valorii de prag.

Glansdorf și Prigogine (1971) au demonstrat că atunci cînd într-un sistem există forțe termodinamice mari, pentru care dependența dintre fluxuri și forțe este neliniară, distribuția omogenă a componenților devine instabilă și se produce o tranziție bruscă într-o stare cu distribuție neomogenă, deci mai structurată, în timp ce în condiții staționare, apropiate de echilibru, adică pentru forțe termodinamice mici, o distribuție neomogenă a componenților era instabilă, tinzînd să dispară, traversarea sistemului de către un flux de energie care menține valorile mari ale for-

ţelor făcînd ca tocmai distribuţia neomogenă să fie stabilă. Neomogenităţile se pot manifesta atît din punct de vedere al distribuţiei spaţiale, cît şi a succesiunii temporare a proceselor, acestea decurgînd în mod ordonat în timp, adică periodic.

Conceptul de „structură disipativă" se dovedeşte a fi una din achiziţiile majore din ultimii ani ale termodinamicii, în special prin posibilitatea de a reprezenta modalităţile de apariţie şi dezvoltare a ordinii specifice sistemelor biologice. Merită remarcat însă faptul că, încă din 1879, Herbert Spencer a emis ipoteza că forţa motrice a evoluţiei este trecerea de la structuri omogene la neomogene, o tranziţie pe care el o considera echivalentă cu dezvoltarea complexităţii de organizare. Prin aceasta, Spencer căuta să ofere o fundamentare generală teoriei evoluţioniste a lui Ch. Darwin.

Un exemplu biologic interesant de structură disipativă îl constituie agregarea coloniilor de amibe (de exemplu, *Dictyostelium discoideum*) ca un corp multicelular structurat, prin asocierea unui număr de pînă la $10^6$ organisme monocelulare independente şi identice. Imediat după germinare, celulele se dispersează ca şi cum ar acţiona o repulsie reciprocă. Cînd este prezentă o sursă de hrană (bacterii), amibele se deplasează spre ea, pe baza unor proprietăţi chimiotactice. După terminarea hranei tind să se distribuie uniform, apoi încep să se agrege într-un număr de puncte de condensare în care se formează corpi multicelulari capabili să fructifice, formînd spori. Interacţiile celulare „repulsive" sau „atractive", mediate de către o substanţă numită iniţial *acrazină*, şi care s-a dovedit că este AMP-ciclic, duc la agregare prin amplificarea unor neomogenităţi ce perturbă distribuţia uniformă a amibelor. Din analiza condiţiilor de instabilitate a distribuţiei uniforme s-a dedus în mod teoretic că se trece spontan la agregare atunci cînd celulele suferă o creştere suficientă fie a intensităţii producerii de acrazină, fie a sensibilităţii pe care o au faţă de un gradient dat de acrazină. Aceste concluzii teoretice concordă foarte bine cu datele experimentale, iar procesul considerat este semnificativ atît din punct de vedere al morfogenezei, cît şi al ecologiei.

Ordonarea biosistemelor se manifestă nu numai prin distribuţii spaţiale specifice, ci şi prin desfăşurarea ordonată în timp a proceselor biologice, ceea ce dă naştere *bioritmurilor*.

*

Încheiem aceste consideraţii subliniind ideea că biosistemele reprezintă, din punct de vedere termodinamic, *sisteme deschise*, traversate de fluxuri permanente de materie, în care au loc procese ireversibile disipative de energie. Ele constituie *structuri disipative*, cu un grad înalt de ordonare spaţială şi cu o dinamică temporară specifică a proceselor, structuri care pot apărea şi se menţin numai în condiţii îndepărtate de echilibru, pe seama disipării de energie provenită din exterior.

În acest context, fluxul de energie radiantă primit de suprafaţa Pămîntului de la Soare şi redat spaţiului cosmic prin radiaţia proprie a Pămîntului, se relevă drept condiţia necesară apariţiei de structuri disipative din ce în ce mai complexe, printr-o succesiune de tranziţii către stări cu un grad de organizare din ce în ce mai înalt. Originea vieţii şi dezvoltarea

biosferei în ansamblu sînt astfel aspecte ale aceleiaşi probleme a structurării şi organizării tot mai avansate a mediului epiterestru, diferitele fenomene ecologice constituind manifestări particulare ale acestui proces fundamental.

## BIBLIOGRAFIE


Vasilescu, V. şi Mărgineanu, D.-G. Capit. 2 şi 12 din *Biofizica medicală*. Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1977.

Mărgineanu, D. *Unele aplicaţii ale termodinamicii în biologie*. În : „Progresele Ştiinţei", vol. 9, nr. 7, *350*, 1973.

Prigogine, I. *Introduction à la thermodynamique des processus irreversibles*. Edit. Dunod, Paris, 1968.

Morowitz, H. J. *Entropy for Biologists*. An „Introduction to Thermodynamics". Academic Press, New York, 1972.

# 3

# NOȚIUNI DE BIOCIBERNETICĂ

O trăsătură fundamentală a revoluției tehnico-științifice contemporane o constituie introducerea ciberneticii în cele mai diferite domenii de activitate.

*Cibernetica* este un domeniu al științei care studiază procesele de reglaj, comandă și control în funcționarea mașinilor, a organismelor vii și a structurilor sociale.

Termenul a fost folosit de Platon (*kibernetis*=pilot), apoi de A. M. Ampère, pentru a defini acea parte a economiei politice care se ocupă cu arta guvernării, iar în accepția actuală, de către Norbert Wiener (1948), în lucrarea: *„Cibernetica, sau control și comunicație la animale și la mașină"*.

Dezvoltarea ciberneticii se bazează pe studierea sistemelor de comandă și a sistemelor de comandă cu autoreglare.

## 3.1. SISTEME CU REGLARE AUTOMATĂ

Prin *sistem de comandă* se înțelege un ansamblu funcțional prin care se introduce o mărime de intrare într-un element de execuție, element care, la rîndul lui, generează o mărime de ieșire. În timpul funcționării acestui sistem, odată cu mărimea de intrare intervin influențe suplimentare, numite *perturbații*, care pot altera calitatea mărimii de ieșire. Din acest motiv, se impune *reglarea* sistemului de comandă. Reglarea reprezintă influențarea intenționată a stării funcționale a unui sistem de comandă, în scopul de a obține și a menține o anumită valoare a mărimii de ieșire, sau, cu alte cuvinte, reglarea reprezintă totalitatea operațiilor care au ca efect menținerea unor parametri la anumite valori, în prezența perturbațiilor existente. Reglarea poate fi :

— *proporțională*, dacă există o relație de proporționalitate între mărimea de ieșire și cea de execuție ;

— *diferențială*, dacă proporționalitatea există între mărimea de acționare și viteza de variație a mărimii de comandă ;

— *integrală*, cînd mărimea de acționare este influențată de acumularea în timp a variațiilor mărimii reglate ;

— *mixtă*, de exemplu proporțională și diferențială, așa cum este cazul reglării tensiunii arteriale.

Unele sisteme de comandă funcționează prin *reglare automată*. Sistemele cu autoreglare reușesc să mențină o relație constantă între mărimea de intrare și cea de execuție, indiferent de valoarea perturbațiilor.

Sistemele biologice sînt sisteme cu *autoreglare*. Principiul de bază al autoreglării constă în admiterea existenței *legăturii inverse* („feed-back“ [1]). Aceasta constă în faptul că de la elementul efector pornesc căi care întorc spre un centru regulator informația asupra modului de desfășurare a acțiunii, a eventualei ei devieri de la valoarea mărimii de intrare. Acest centru regulator trimite imediat *semnale corectoare* fie moderatoare, fie acceleratoare, pentru a redresa automat activitatea la valoarea prescrisă.

Conexiunea inversă poate fi *pozitivă* și *negativă*. „Feed-back“-ul pozitiv, prin efectele sale, face ca o deviere într-un anumit sens a mărimii de ieșire să nu fie diminuată, ci amplificată în mod continuu, pînă la atingerea unei valori extreme. În funcție de sensul deviației inițiale, sistemul poate fi distrus prin atingerea unei valori maxime tolerabile, sau poate fi blocat prin atingerea unei valori minime de anulare. De obicei stările extreme sînt evitate prin apariția la un moment dat a „feed-back“-ului negativ, care stabilizează sistemul în noua sa stare funcțională. În alte situații, starea extremă creată de „feed-back“-ul pozitiv reprezintă o mutație a sistemului în care conexiunea inversă pozitivă nu mai are nici o semnificație. „Feed-back“-ul negativ menține constanța în timp a mărimii de ieșire, sau proporționalitatea dintre aceasta și mărimea de intrare. Cu alte cuvinte, conexiunea inversă negativă se opune variației mărimii de ieșire, asigurînd stabilitatea sistemului. Un exemplu bun de „feed-back“ negativ în biologie îl constituie homeostazia, prin care se înțelege menținerea diferitelor constante fiziologice ale mediului intern, între anumite limite de oscilație normală, dar nu ideală. Acesta este și motivul pentru care, pentru exprimarea unor indici fiziologici, se dau limitele de variație normală (minimă și maximă) și în nici un caz o valoare unică.

Legătura matematică existentă între mărimea de intrare și mărimea de ieșire într-un sistem cu autoreglare constituie un criteriu fundamental de clasificare a acestor sisteme. Dacă efectul variază proporțional cu cauza, sistemul se numește *liniar*, spre deosebire de cazul unei variații neproporționale, specifică sistemului *neliniar*. Sistemele biologice sînt, în general, *sisteme neliniare*.

Toate sistemele cu reglare automată au în componența lor următoarele elemente :

— *circuite de comandă*, care primesc informații de comandă și care acționează efectiv asupra unui proces de execuție, conform informațiilor primite ;

[1] Termen tradus din limba engleză, de obicei prin : conexiune inversă, retroacțiune, flux recurent, retrocuplaj, legătură inversă.

— *circuite de control*, care deţin şi transportă informaţiile de control în sens invers informaţiilor de comandă ;

— *circuite de reglaj* care, ţinînd cont de programul de executat şi de rezultatele măsurătorilor efectuate, hotărăsc corecţiile care trebuie aduse regimului de funcţionare al sistemului, trimiţînd semnale corespunzătoare circuitelor de comandă (fig. 3.1).

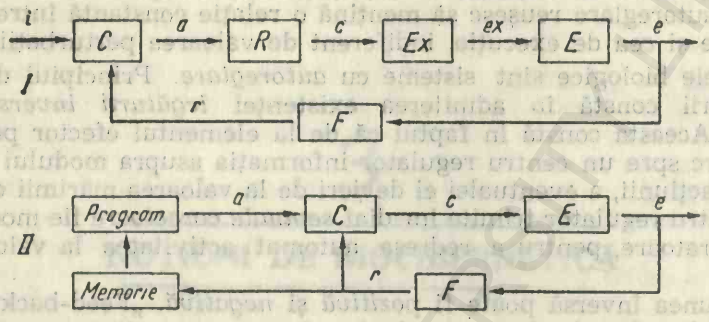



Fig. 3.1. I — Sistem cu reglare automată, fără dispozitiv de memorie :

*i* — mărime de intrare; *a* — mărime de acţionare; *c* — mărime de comandă; *ex* — mărime de execuţie; *e* — mărime de ieşire; *r* — mărime de reacţie; *C* — element de comparare; *R* — element regulator; *Ex* — element de execuţie; *E* — element efector, comandat; *F* — element de reacţie — „feed-back".

*II* — Sistem cu reglare automată şi cu dispozitiv de memorie.

Din cele prezentate, rezultă că în sistemele de reglare automată un rol deosebit îl are informaţia de comandă şi de control, care circulă prin canalele de comandă şi, respectiv, de control.

## 3.2. ELEMENTE DE TEORIA INFORMAŢIEI

În studiul sistemelor de reglare automată a apărut conceptul de *informaţie*. În cadrul ciberneticii se studiază şi problema măsurării cantităţii de informaţie, a transmiterii, prelucrării şi conservării acesteia, a circuitelor şi canalelor de transmitere, indiferent de natura lor. Toate aceste elemente alcătuiesc un capitol al ciberneticii care poartă numele de teoria informaţiei. Această teorie permite să se stabilească cele mai convenabile coduri de transmitere a informaţiilor şi să se utilizeze cît mai economic canalele de transmisie.

### 3.2.1. SISTEME DE COMUNICAŢIE

Toate sistemele de comunicaţie, indiferent de tipul considerat, prezintă acelaşi principiu de funcţionare (fig. 3.2). La nivelul receptorului, odată cu mesajul, pot apărea şi o serie de perturbaţii care alterează calitatea

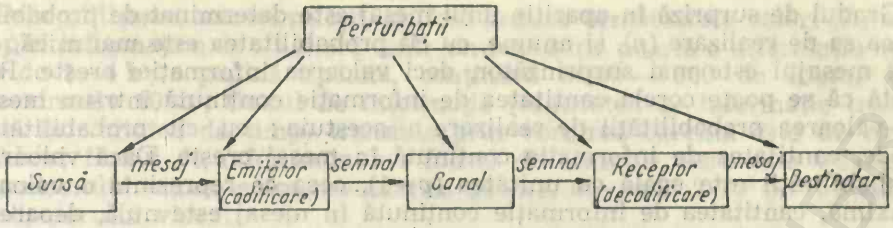



Fig. 3.2. Schema unui sistem de comunicație.

mesajului. Perturbațiile pot interveni la oricare nivel al sistemului de comunicație, dar în special la nivelul canalului de transmitere a semnalelor.

### 3.2.2. RAPORTUL DINTRE ENERGIE ȘI INFORMAȚIE

Deoarece orice semnal energetic este purtătorul unei cantități de informație, energia trebuie considerată și sub aspect informațional. În sistemele biologice, energia purtătoare de informație este în general energia de excitație. În transmiterea unei informații se folosesc, de regulă, cantități de energie foarte mici în raport cu efectul final produs de aceasta.

Între cibernetică și energetică există asemănări, dar și deosebiri. Astfel, în timp ce energia se supune principiului conservării, în cazul informației acest principiu nu este respectat. De exemplu, după o prelegere, informația de care dispun persoanele din auditoriu este mult mai mare, fără ca, prin aceasta, cantitatea de informație a conferențiarului să fi diminuat. În cibernetică accentul se pune pe informație, adică pe sensul pe care îl are un semnal pentru un anumit sistem capabil de a „sesiza" acest sens. În energetică, accentul se pune pe energie, pe cantitatea de energie recepționată și pe randamentul utilizării acesteia.

Prin informație se înțelege fiecare dintre elementele noi conținute în semnificația unui simbol sau a unui grup de simboluri, cu ajutorul cărora se comunică date relativ la anumite evenimente, situații, stări, acțiuni etc.

N. Wiener arată că informația nu este nici substanță și nici energie, dar nu poate fi concepută în afara acestora, deoarece transmiterea informației se produce prin sisteme materiale cu consum energetic.

### 3.2.3. CALCULUL INFORMAȚIEI ȘI UNITĂȚI DE MĂSURĂ ALE CANTITĂȚII DE INFORMAȚIE

Cînd se transmite sau se recepționează un mesaj se va transmite sau se va recepționa o informație, numai în cazul în care conținutul mesajului nu era cunoscut în prealabil. Valoarea informației este cu atît mai mare, cu cît „gradul de surpriză" al mesajului este mai mare, cu alte cuvinte cantitatea de informație conținută într-un mesaj este echivalentă cu incertitudinea pe care a înlăturat-o mesajul respectiv.

Gradul de surpriză în apariția unui mesaj este determinat de probabilitatea sa de realizare ($p$), și anume, cu cît probabilitatea este mai mică, cu atît mesajul este mai surprinzător, deci valoarea informației crește. Rezultă că se poate corela cantitatea de informație conținută într-un mesaj cu valoarea probabilității de realizare a acestuia; cu cît probabilitatea scade, cantitatea de informație conținută în mesaj crește. Dacă valoarea probabilității este egală cu unitatea ($p=1$), ceea ce reprezintă o valoare maximă, cantitatea de informație conținută în mesaj este nulă, deoarece evenimentul este cert și realizarea lui nu aduce nici un fel de informație.

În lucrarea „*A Mathematical Theory of Communication*", apărută în anul 1948, C. E. Shannon, inițiatorul teoriei informației, propune pentru cantitatea de informație ($I$), conținută într-un mesaj care se produce cu probabilitatea ($p$), expresia :

$$I=\log \frac{1}{p} = -\log p. \tag{3.1}$$

Pentru stabilirea unității de măsură a cantității de informație, Shannon propune ca în ecuația (3.1) să fie utilizați logaritmii în baza 2. Rezultă că, pentru a obține unitatea de măsură a cantității de informație, trebuie ca mesajul să aibă o probabilitate de realizare de $1/2=0{,}5$. Ecuația de mai sus devine, în acest caz :

$$I=\log_2 \frac{1}{1/2} = \log_2 2 = 1 \text{ bit}. \tag{3.2}$$

Deci, unitatea pentru cantitatea de informație conținută într-un mesaj, care are probabilitatea de realizare de 1/2, exprimată în baza 2 a logaritmilor, a fost denumită bit binary digit=bit). Uneori se utilizează logaritmii naturali, sau cei în baza 10, avînd, după caz, drept unitate de măsură pentru cantitatea de informație nitul sau ditul.

### 3.2.4. NOȚIUNI PRIVIND ENTROPIA INFORMAȚIONALĂ

*Entropia informațională* (sau informația medie) este o mărime care caracterizează, din punct de vedere informațional, un experiment în totalitatea lui. Într-un experiment ($E$), repetat de $N$ ori, mesajul $A_1$, care apare de $n_1$ ori, va aduce o cantitate de informație $I(A_1)$, mesajul $A_2$ : $I(A_2)$ și mesajul ... $A_n$ : $I(A_n)$. Cantitatea medie de informație $H(E)$ care corespunde pentru fiecare repetare a experienței se va calcula prin relația :

$$H_{(E)}=\frac{n_1 \cdot I(A_1)+n_2 \cdot I(A_2)+\ldots+n_n \cdot I(A_n)}{N}. \tag{3.3}$$

Cum însă rapoartele $n_1/N$, $n_2/N$, ..., $n_n/N$ reprezintă probabilitățile : $p_1$, $p_2$, ..., $p_n$ ale mesajelor $A_1$, $A_2$, ..., $A_n$, iar cantitatea de informație se poate înlocui cu expresia calculată în funcție de probabilități, vom obține, în final :

$$H_{(E)}=-p_1 \log p_1 - p_2 \log p_2 - \ldots - p_n \log p_n = -\sum_{i=1}^{n} p_i \log p_i. \tag{3.4}$$

Prin utilizarea acestei relații, au fost deduse următoarele valori ale entropiei informaționale : o literă dintr-un text scris poartă o informație medie de 1—4 b ; o pagină tipărită, conținînd 2 000—3 000 de litere, are aproximativ $10^4$ b ; fluxul de informație (cantitatea de informație transmisă în unitatea de timp) transmis prin vorbirea curentă este de circa 200 b/s ; fluxul de informație sub formă de semnale, care este transmis organismului uman, a fost evaluat la $10^7$ b/s, din care $2 \cdot 10^4$ b/s pe calea analizatorului vizual.

Entropia informațională este o caracteristică statistică importantă a unui experiment, deoarece măsoară gradul de nedeterminare al acestuia. Cu cît valoarea entropiei informaționale este mai mare (valoarea absolută a sumei, mai mică), cu atît rezultatul experimentului este mai nedeterminat, mai greu de prevăzut, iar informația legată de realizarea lui va fi mai mare.

Informația medie a fost denumită de către Shannon *entropie informațională*, datorită faptului că expresia (3.4) este analoagă cu expresia entropiei termodinamice la care a ajuns Boltzmann (v. *Subcapit.* 2.2).

$$S = -k \sum_{i=1}^{n} p_i \log p_i, \tag{3.5}$$

în care $i$ reprezintă stările posibile în care se poate afla un sistem termodinamic.

Analogia dintre cele două forme de entropie se datorește faptului că atît sistemele termodinamice studiate de Boltzmann, cît și mesajele studiate de Shannon, se caracterizează printr-un grad de organizare, respectiv de dezordine. Creșterea entropiei informaționale fie că este vorba de informația structurală a unui sistem viu, fie că este vorba de reducerea nedeterminării unui eveniment, atrage după sine o scădere a entropiei termodinamice, și invers. Datorită existenței acestei legături, informația a fost numită și *neg-entropie*, iar abaterile de la echilibrul termodinamic pot fi apreciate tot în biți.

## 3.3. SEMNIFICAȚIA REDUNDANȚEI ÎN TRANSMITEREA INFORMAȚIEI

În general, într-un experiment, fenomenele se succed într-o anumită ordine, astfel încît probabilitatea realizării unui eveniment oarecare depinde de realizarea sau nerealizarea evenimentului anterior. Cu cît există mai multe legături între fenomenele componente, cu atît scade gradul de nedeterminare al sistemului respectiv, deci valoarea entropiei informaționale scade. Pentru a aprecia măsura în care scade gradul de nedeterminare al unui fenomen, se calculează o mărime numită *redundanță absolută* ($R$), prin relația :

$$R = H_{max} - H, \tag{3.6}$$

în care $H$ este entropia informațională a sistemului într-o stare oarecare, caracterizată de un grad de nedeterminare mai mic decît în starea în care entropia informațională este maximă ($H_{max}$).

În practică se folosește *redundanța relativă* ($R_r$), care reprezintă raportul dintre redundanța absolută și valoarea maximă a entropiei informaționale :

$$R_r = \frac{R}{H_{max}} = \frac{H_{max} - H}{H_{max}} = 1 - \frac{H}{H_{max}} \cdot \qquad (3.7)$$

Redundanța relativă este subunitară și cu atît mai mică, cu cît entropia informațională este mai mare.

Valoarea redundanței va fi cu atît mai mare, cu cît există mai multe corelații între mesajele componente ale unui experiment, deoarece, odată cu creșterea numărului de corelații, crește valoarea redundanței. Va fi necesară utilizarea unui surplus de informații față de cel necesar transmiterii cantității de informație corespunzătoare entropiei informaționale.

Cu alte cuvinte, redundanța reprezintă cantitatea suplimentară de informație care se transmite pentru a se asigura eficiența unui semnal, ea intervenind ori de cîte ori se pune problema stabilității comunicațiilor.

## 3.4. MECANISMELE TRANSMITERII INFORMAȚIEI

Informația poate fi transmisă prin semnale care se propagă prin *canalul de comunicație* numai prin codificarea mesajelor și transformarea lor în semnale, urmată de decodificarea acestora. În momentul recepționării semnalelor, la capătul de ieșire al liniei de transmisie, acestea pot prezenta modificări datorită perturbațiilor care apar în timpul transmiterii. În canalele de comunicație are loc atenuarea și perturbarea semnalelor. Orice canal de comunicație se caracterizează printr-o capacitate maximă de transmisie, definită prin numărul maxim de semnale care pot parcurge linia în unitatea de timp.

Informația trebuie transmisă astfel încît pierderile datorate atenuării energiei semnalelor, sau datorate perturbațiilor, să fie cît mai reduse, iar pe de altă parte este necesar să se cunoască valoarea redundanței.

### 3.4.1. NOȚIUNI PRIVIND CODIFICAREA

O noțiune importantă utilizată în cibernetică este aceea de c o d. Prin *codificare*, se înțelege operația de trecere de la un sistem de semnale la altul și se realizează la nivelul traductorului. Semnalele pot fi continui sau discontinui și se numesc *litere*. Ansamblul tuturor literelor într-un sistem de comunicație constituie un *alfabet*, a cărui lungime depinde de numărul literelor folosite. Cu cît lungimea alfabetului este mai mare, cu atît cantitatea de informație dată prin apariția unui semnal oarecare este mai mare, deoarece probabilitatea de apariție a semnalului este mai mică. În mecanismul codificării, pentru fiecare problemă trebuie ales un alfabet corespunzător.

În vederea codificării, traductorul poate transforma mesajele în semnale prin modularea acestora (fig. 3.3). Modularea poate fi realizată în :

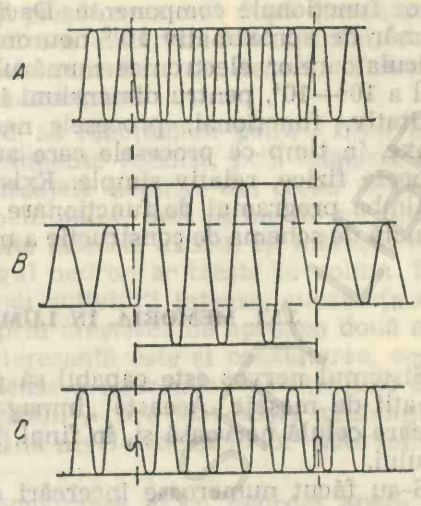



Fig. 3.3. Tipuri de modulare a semnalelor : *A* — în frecvență; *B* — în amplitudine; *C* — în fază.

— *frecvență*, prin schimbarea intervalelor de timp dintre semnale, amplitudinea lor rămînînd constantă (fig. 3.3, *A*) — *modularea biologică* ;

— *amplitudine*, prin schimbarea amplitudinii semnalelor, frecvența lor rămînînd constantă (fig. 3.3, *B*) ;

— *fază*, prin inversarea fazei de oscilație a semnalului (fig. 3.3, *C*).

Transmiterea informației se poate realiza în :

— *sistem analogic*, caracterizat prin variația continuă a mesajului de intrare, care este codificat prin intermediul traductorilor într-o variație continuă a frecvenței, amplitudinii sau fazei. Acest sistem este propriu funcționării mecanismelor de transmitere a informației și în biologie ;

— *sistem digital* (cifric sau numeric), cînd diferitele valori pe care le pot lua mesajele sînt repartizate în clase, fiecăreia revenindu-i un semnal reprezentat prin unul din numerele naturale 1, 2, 3 ... Pentru toate mesajele dintr-o clasă, traductorul este un număr întreg.

Spre deosebire de sistemul analogic, la care semnalul are o variație continuă, în sistemul digital variația este discontinuă.

## 3.5. CÎTEVA NOȚIUNI DE NEUROCIBERNETICĂ

Analogia care se mai face uneori între creier și o mașină electronică de calcul este o problemă mult discutată. Deși în funcționalitatea lor prezintă unele similitudini, totuși deosebirile cantitative și calitative existente fac ca noțiunea de „creier electronic" să aibă în prezent mai ales un sens figurativ.

Schema funcțională a mașinilor cibernetice nu este inspirată din anatomia și fiziologia sistemului nervos central și doar rezultatele funcționării lor seamănă întrucîtva.

Între creierul uman și o mașină electronică de calcul există în primul rînd deosebiri cantitative, în ceea ce privește numărul și volumul elemen-

telor funcționale componente. Dacă pentru creierul uman înregistrăm un număr de aproximativ $10^{10}$ neuroni de dimensiuni microscopice, în cazul calculatoarelor electronice numărul elementelor funcționale este de ordinul a $10^3$—$10^4$, pentru dimensiuni încă macroscopice. Din punct de vedere calitativ, funcțional, procesele nervoase sînt manifestări biologice complexe, în timp ce procesele care au loc într-un calculator electronic sînt procese fizice, relativ simple. Există unele mașini de calcul care își pot schimba programul de funcționare, însă această schimbare este predeterminată de schema de construcție a mașinii.

### 3.5.1. MEMORIA, ÎN LUMINA TEORIEI INFORMAȚIEI

Sistemul nervos este capabil să păstreze anumite mesaje și chiar combinații de mesaje. Această „înmagazinare" (memorizare) se realizează în fiecare celulă nervoasă și, în final, în întregul ansamblu structural al creierului.

S-au făcut numeroase încercări de a trata procesul de memorizare în lumina teoriei informației. Într-un neuron mesajele pot pătrunde prin mai multe căi, care sînt sinapsele axo-somatice, și în special axo-dendritice, și pot părăsi pericarionul printr-o singură cale, aceea axonică.

Notînd cu $p$ valoarea pragului liminar pentru excitarea celulei, cu $e$ numărul de excitații care intră în celulă și cu $i$ numărul de fenomene inhibitorii, excitația celulară va fi declanșată, dacă :

$$e - i \geqslant p. \tag{3.8}$$

Debitul de transmitere a informației printr-un neuron este de circa 1 000 b/s. O parte dintre mesajele ajunse la creier se pot depozita sub formă de memorie, și anume, în cele aproximativ $1{,}4 \cdot 10^{10}$ celule nervoase ar putea să fie înmagazinate, în cursul unei vieți medii la om, o cantitate de informație de circa $10^9$—$10^{11}$ b. Comparînd această cantitate de informație cu numărul de neuroni, rezultă că este foarte posibil ca fiecare neuron să rețină o cantitate de informație de un bit.

Informația conținută în creier provine, pe de o parte, dintr-o moștenire genetică, iar pe de altă parte, în urma procesului de instruire individuală.

Mecanismul intim al stocării informației la nivelul celulelor nervoase este încă insuficient elucidat. În tehnică, sînt de obicei folosite două procedee pentru stocarea informației, obținîndu-se :

— *memoria „circulantă"*, în cazul în care mesajul este transmis și retransmis circular într-un grup mai mic sau mai mare de relee, prin circuite de repetitori ;

— *memoria „fixă"*, în cazul în care mesajele sînt imprimate, cu o anumită deformare, pe un substrat oarecare : placă fotografică, bandă magnetică, cartelă perforată etc.

La nivelul neocortexului, au fost identificate ambele mecanisme de memorizare. Astfel, au fost puse în evidență grupări neuronale care alcătuiesc adevărate *circuite închise-circuite reverberante*. Existența acestor circuite a fost demonstrată atît histologic, cît mai ales fiziologic. Impulsurile nervoase, care reprezintă codificarea mesajelor primite prin receptori, pot fi reținute astfel în creier la nivelul circuitelor reverberante.

Faptul că un om, sau un animal, nu-şi pierde memoria după o anestezie profundă, care suprimă temporar activitatea electrică a cortexului, deci opreşte circulaţia informaţiei în circuitele reverberante, denotă că stocarea informaţiei se realizează şi prin alte mecanisme.

Deoarece memoria „circulantă" pare să funcţioneze pentru intervale scurte de timp, deci numai pentru evenimente recente, prin analogie cu dispozitivele tehnice, se presupune că mesajele electrice din creier ar produce modificări structurale la nivelul neuronilor, deci forme de memorie „fixă". Este cunoscut că, după o activitate intensă, axonul îşi măreşte volumul, iar după unii autori chiar întregul neuron ar creşte în volum. De asemenea, s-a constatat că, în urma unei activităţi intense, suprafaţa de contact dintre doi neuroni se măreşte, prin creşterea de aproape două ori a diametrului „butonului" terminal. Interesantă este şi constatarea, conform căreia, în urma unei activităţi intense a neuronilor se modifică dimensiunile şi aspectul aşa-numiţilor „spini", care sînt nişte prelungiri extrem de fine ale neurilemei, în special la nivelul dendritelor neuronilor din neocortex.

Aceste constatări experimentale demonstrează că în neuroni apare şi o modificare structurală. Deoarece un mesaj poate fi stocat în 0,1 secunde, rezultă că modificarea structurală respectivă trebuie să fie foarte fină şi de dimensiuni mici, probabil de ordin molecular. Este o concluzie care stă la baza teoriei substratului biochimic al memoriei.

În privinţa legăturii dintre memoria „circulantă" şi cea „fixă", se poate presupune că persistenţa unor mesaje în circuitele reverberante permite acestora o acţiune mai durabilă pe substratul biochimic al memoriei. Existenţa unui substrat biochimic pentru stocarea mesajelor este dovedită şi de faptul că memoria poate fi modificată prin acţiunea unor substanţe toxice cum ar fi alcoolul, nicotina, compuşi pe bază de plumb etc.

În timpul excitării, neuronul emite o multitudine de mesaje care pot fi modulate în frecvenţe variabile. De aici rezultă că şi modificările moleculare care păstrează asemenea mesaje nervoase trebuie să fie şi ele multiple. Aceasta implică existenţa unor molecule cu o organizare internă complexă şi multiple variante în privinţa structurii spaţiale a diferitelor lor componente. Este vorba de molecule cu o variată stereoizomerie, condiţie pe care o pot asigura doar moleculele de nucleoproteine.

Conform ipotezei emise, în realizarea memoriei „fixe" ar fi implicaţi acizii nucleici prin două posibilităţi *1*) este posibil ca moleculele de acizi nucleici să intervină în stocarea informaţiilor sub formă de memorie, într-un mod asemănător celui de codificare a informaţiei genetice ; *2*) este posibilă producerea unei forme de ARN care fie el însuşi, fie prin proteinele pe care le sintetizează, asigură bazele moleculare ale memoriei.

Din cele prezentate trebuie reţinut că procesele de memorizare din sistemul nervos au la bază mecanisme moleculare a căror natură, cel puţin pînă în prezent, nu a fost satisfăcător explicată. Faptul că neuronii nu au capacitatea de a se divide şi de a se multiplica duce la ideea că această particularitate poate fi strîns corelată cu păstrarea memoriei, atît cea de natură genetică, sub formă de instincte, cît şi cea dobîndită în procesul de învăţare.

## BIBLIOGRAFIE


Bauer, F. L. şi Goos, G. *Informatik* (2 vol.). Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1974.

Bittman, E. *Cibernetică şi biologie.* Editura ştiinţifică, Bucureşti, 1974.

Katz Eli. *Creier uman şi creier artificial.* Editura ştiinţifică şi enciclopedică, Bucureşti, 1977.

Nicolau, Ed. şi Bălăceanu, C. *Elemente de neurocibernetică.* Editura ştiinţifică, Bucureşti, 1967.

Săhleanu, V. *Eseu de biologie informaţională.* Editura ştiinţifică, Bucureşti, 1973.

Vasilescu, V. (sub red.) *Biofizică medicală* (Capit. 3). Editura didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1977.

Wiener Norbert. *Cibernetica sau ştiinţa comenzii şi comunicării la fiinţe şi maşini.* Editura ştiinţifică, Bucureşti, 1966.


BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

## Partea a doua

# ELEMENTE DE BIOFIZICĂ A STRUCTURII ŞI FUNCŢIONĂRII ORGANISMELOR

Avînd drept obiectiv general înţelegerea cît mai aprofundată a fenomenelor biologice, biofizica se referă la aceleaşi sisteme (formaţiuni subcelulare, celule, ţesuturi etc.) care sînt studiate şi de alte discipline biologice. Specificul său constă însă în evidenţierea interacţiunilor elementare şi a mecanismelor de bază implicate în realizarea funcţiilor biologice. Corespunzător cu aceasta, în următoarele capitole sînt prezentate mai întîi principalele procese fizice de nivel molecular din organisme, precum şi cadrul lor structural de desfăşurare. Apoi se trece la fenomene tipic biofizice, aşa cum sînt cele care au loc la nivelul membranelor biologice, fenomenele bioelectrice şi cele biomecanice. Subliniem faptul că, în toate aceste cazuri, cunoştinţele expuse trebuie considerate numai ca o bază de studiu, care să permită dezvoltări ulterioare.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

# 4

# APA ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

Apa este substanța chimică cea mai larg răspîndită pe glob, acoperind peste 70% din suprafața planetei noastre. Ea poate fi considerată drept „matrice a vieții", atît din punct de vedere istoric cît și actual, deoarece este aproape sigur că viața a apărut în mediul acvatic, că acesta a fost cadrul ei primar de dezvoltare și este evidentă dependența și condiționarea oricărei forme actuale de viață de prezența apei.

## 4.1. IMPORTANȚA APEI ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

Apa constituie *solventul universal* atît în mediul interstițial ce scaldă toate celulele, cît și în mediul intracelular în care au loc reacțiile chimice caracteristice materiei vii. Apa este *mediul de transport* al substanțelor de la un organ la altul (prin intermediul fluidelor circulante extracelulare) și de eliminare a produșilor de dezasimilație în afara organismului (prin urină și transpirație). În interiorul celulelor, în afara rolului său ca *mediu de dispersie*, apa este necesară pentru *reacțiile de hidroliză* și apare ca *produs final* al oxidărilor biologice și al reacțiilor de condensare. În cazul plantelor, apa este (alături de $CO_2$) un *reactant primar* în procesul fotosintezei. Avînd conductibilitate termică și căldură specifică foarte mari, apa constituie factorul esențial de „*tamponare*" a variațiilor de temperatură în cadrul organismelor, iar la homeoterme evaporarea apei constituie principala modalitate de degajare în mediu a căldurii rezultată din catabolism.

În afara acestor funcții de bază ale apei în organisme, mai pot fi enumerate și altele ca, de exemplu, aceea de *protecție mecanică* a unor sisteme (sistemul nervos central) și *mediu de flotație* (suspensie) al unor celule libere (elementele figurate ale sîngelui, spermatozoizii).

### 4.1.1. CONȚINUTUL DE APĂ AL ORGANISMELOR ȘI AL ȚESUTURILOR

Dacă pentru formele sporulate ale bacteriilor conținutul apos este sub 50%, el ajunge, în cazul celenteratelor, pînă la 97%, așa încît despre aceste organisme s-ar putea afirma, în sens metaforic, că reprezintă „apă care trăiește".

Conținutul de apă al oricărui organism prezintă o tendință constantă de scădere pe parcursul evoluției ontogenetice, așa cum rezultă din tabelul 4.1.

*Tabelul 4.1*

**Conținutul procentual de apă al organismului uman în diferite stadii**

| Embrion în luna : | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Nou-născut | Adult |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Apă (% din masa totală) | 97 | 94 | 92 | 85 | 74 | 67—74 | 58—67 |

Se pot da diferite interpretări ale scăderii conținutului de apă al organismului pe măsura dezvoltării ontogenetice, de exemplu corelînd cu stadiile filogenetice corespunzătoare. De asemenea, se știe că, pe măsura avansării în vîrstă, scade intensitatea proceselor metabolice, iar apa, ca cel mai dinamic component, urmează această tendință.

Corelația directă între dinamica metabolică și conținutul în apă este ilustrată de către datele din tabelul 4.2, referitoare la diferitele țesuturi ale organismului uman adult.

*Tabelul 4.2*

**Conținutul procentual de apă al principalelor țesuturi**

| Țesutul | Apă (% din masă) |
|---|---|
| Dentină | 10 |
| Schelet | 30 |
| Țesut adipos | 30 |
| Cartilaj | 50 |
| Ficat | 70 |
| Țesut nervos (subst. albă) | 70 |
| Țesut nervos (subst. cenușie) | 85 |
| Pancreas | 75 |
| Mușchi striat | 76 |
| Inimă, plămîn, rinichi, splină | 80 |

Din tabelul 4.2 rezultă că majoritatea țesuturilor conțin aproximativ aceeași proporție de apă, cu excepția țesutului adipos, care joacă mai ales rol de rezervă energetică a organismului și a sistemului osos, care are rolul predominant de susținere mecanică. Paralelismul între dinamica metabolică și conținutul de apă este confirmat de procentul foarte mic de apă din dentină, despre care se știe că are un metabolism foarte redus, ca

și de conținutul de apă mai mic în substanța nervoasă albă (formată mai ales din fibre nervoase) față de materia cenușie (alcătuită din somele neuronale, care sînt principalul sediu al metabolismului celulei nervoase).

### 4.1.2. PROPRIETĂȚILE FIZICE ȘI STRUCTURA APEI

Ne vom opri, succint, numai asupra cîtorva proprietăți fizice ale apei, esențiale pentru rolurile ei în sistemele biologice.

1. *Căldura specifică a apei* ($4{,}2\ kJ \cdot kg^{-1} \cdot K^{-1}$) este mult mai mare decît a oricărei substanțe solide sau lichide. Căldura specifică (sau capacitatea termică) mare conferă apei rolul de a tampona variațiile de temperatură atît la nivel planetar prin intermediul hidrosferei, cît și la nivelul fiecărui organism. Ponderea mare a apei în masa tuturor țesuturilor, împreună cu capacitatea termică mare a acesteia, fac, de exemplu, ca o eliberare masivă de căldură, ca urmare a unui travaliu muscular intens, să nu determine vreo supraîncălzire semnificativă înainte ca sistemele de reglare a temperaturii să intre în funcție.

2. *Conductibilitatea termică* ($0{,}59\ J \cdot sec^{-1} \cdot cm^{-1} \cdot K^{-1}$ la 20 °C) este de cîteva ori mai mare decît a majorității lichidelor. Această proprietate accentuează rolul de „amortizor termic" al apei în organisme, intervenind atunci cînd, datorită prezenței membranelor sau a altor structuri, căldura nu poate fi evacuată prin circulația fluidelor în jurul locului ei de producere.

3. *Căldura latentă de vaporizare* ($2{,}43 \cdot 10^6 J/kg$ la 37 °C) a apei este, de asemenea, mult mai mare decît a celorlalte lichide. Acesta este un factor determinant al homeotermiei, și anume al pierderii de căldură (termoliza) ce se produce la temperaturi superioare celor de „confort termic" (în jur de 25 °C). În afara căldurii eliminate prin evaporare pulmonară ($0{,}73 \cdot 10^6$ J/zi), un om adult elimină prin perspirație insensibilă $1{,}73 \cdot 10^6$ J/zi, adică $\approx 20\%$ din producerea totală de căldură, iar prin transpirație această eliminare de căldură poate fi mult crescută.

4. *Densitatea.* Spre deosebire de majoritatea substanțelor la care densitatea scade în mod continuu cu creșterea temperaturii, apa prezintă o temperatură (4 °C) la care densitatea este maximă. Prin răcire sub această temperatură densitatea ei scade, iar prin înghețare densitatea scade brusc. Importanța acestor fenomene pentru viața acvatică este evidentă.

5. *Constanta dielectrică* a apei (78,5 la 25 °C) este foarte mare, ceea ce explică marea capacitate a apei de a ioniza substanțele dizolvate în ea.

6. *Punctele de topire* (0 °C) *și de fierbere* (100 °C) ale apei sînt extrem de ridicate, comparativ cu compușii de tipul $H_2Te$, $H_2Se$, $H_2S$. Extrapolînd valorile acestor puncte pentru acești compuși, în cazul $H_2O$ temperatura de topire ar trebui să fie în jur de —100 °C și de fierbere în jur de —80 °C.

Toate aceste proprietăți particulare ale apei se datorează forței mari cu care moleculele ei se atrag reciproc, datorită caracterului dipolar și capacității de a forma legături de hidrogen, astfel încît apa se comportă ca și cum masa ei moleculară ar fi mult mai mare de 18 u. Atît caracterul dipolar, cît și capacitatea de a forma legături de hidrogen decurg din caracteristicile structurale ale moleculei de apă.

Analiza spectroscopică a vaporilor de apă a arătat că aranjarea atomilor de hidrogen și oxigen în molecula de apă este ca în figura 4.1, *A*. Această dispunere face ca molecula de apă să aibă un moment de dipol de 1,858 Debye$\approx 6{,}2\times10^{-30}$ C.m. Caracterul dipolar al moleculei face ca apa să aibă o constantă dielectrică atît de ridicată, datorită capacității moleculelor de apă de a se orienta în cîmp electric. În același timp, momentul

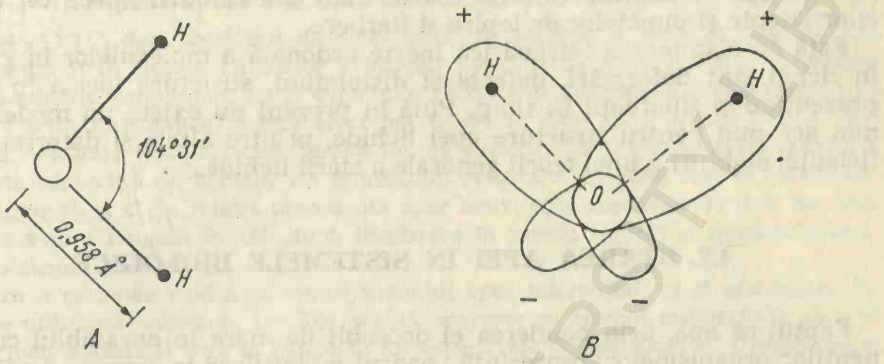



Fig. 4.1. Parametrii structurali (*A*) și dispunerea orbitalilor în molecula de apă (*B*).

dipolar mare face ca moleculele de apă să tindă să se combine cu ionii pentru a forma hidrați. Aceste două proprietăți (ambele decurgînd din caracterul dipolar al moleculei) explică excepționalele calități ca medii de dispersie, de dizolvare și de ionizare ale apei.

Din considerente de mecanică cuantică, rezultă că cele 2 perechi de electroni liberi ai atomului de oxigen al apei sînt în orbitali care, împreună cu cei doi orbitali ce leagă atomii de H legați de respectivul oxigen, sînt aranjați tetraedric în jurul atomului (nucleului) de oxigen (fig. 4.1, *B*). Fiecare din cei 2 protoni poate forma o legătură de hidrogen cu unul din cele două centre de sarcină negativă de pe atomul de oxigen. Deoarece fiecare oxigen este acceptor de 2 legături de H și donor pentru alte 2, fiecare moleculă de apă este înconjurată, tetraedric, de alte 4 molecule de apă (fig. 4.2). În gheață, această orientare tetraedrică se extinde în toate direcțiile, formînd o rețea.

Fiecare moleculă fiind înconjurată numai de alte 4 molecule învecinate, acest lucru face ca gheața să aibă o structură afînată, cu o densitate anormal de scăzută. Prin topire, dispunerea tetraedrică este parțial distrusă, moleculele de apă împachetîndu-se mult mai strîns, astfel încît densitatea crește brusc. Se păstrează însă multe din legăturile de H care se desfac pe măsura încălzirii, determinînd o creștere în continuare a densității pînă la temperatura de 4 °C, cînd dilatarea normală,

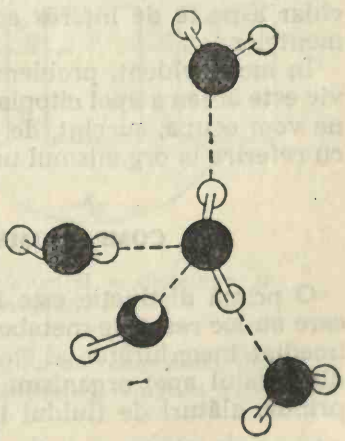


Fig. 4.2. Dispunerea tetraedrică a 5 molecule de apă legate prin punți de hidrogen.

datorită creşterii agitaţiei termice, ajunge să compenseze iar apoi să depăşească acest efect.

Asocierile moleculare prin legături de H fac să crească momentul efectiv de dipol, determinînd astfel valoarea anormal de mare a constantei dielectrice. Faptul că energia acestor legături ($\approx 20\ kJ \cdot mol^{-1}$) este superioară energiei interacţiilor moleculare obişnuite prin forţe Van der Waals ($\sim 1\ kJ \cdot mol^{-1}$) explică valorile foarte mari ale căldurii specifice, căldurilor latente şi punctelor de topire şi fierbere.

Faţă de dispunerea tetraedrică foarte ordonată a moleculelor în gheaţă, în lichid sînt deformări, defecte şi distorsiuni, structura locală în lichid prezentînd şi fluctuaţii în timp. Pînă în prezent nu există un model unanim acceptat pentru structura apei lichide, printre altele şi datorită insuficientei stabiliri a unei teorii generale a stării lichide.

## 4.2. STAREA APEI ÎN SISTEMELE BIOLOGICE

Faptul că apa, prin ponderea ei deosebit de mare în ansamblul componenţilor organismelor, reprezintă „cadrul molecular" în care se desfăşoară viaţa, face ca problema stării ei fizice să fie de o importanţă fundamentală. Din punct de vedere teoretic, elucidarea stării apei în organisme în general, şi în special în interiorul celulelor, constituie etapa majoră şi cea mai dificilă a înţelegerii stării fizice a materiei vii în general. Din punct de vedere practic, este important să se cunoască ce fracţiune din apa organismului poate funcţiona drept solvent pentru substanţe de genul medicamentelor, a căror acţiune depinde de accesul lor la diferite formaţiuni celulare.

O serie de alte probleme practice importante, nemijlocit legate de starea apei în organism, sînt cele ale *criobiologiei* ca, de exemplu, menţinerea viabilităţii organelor izolate păstrate la temperaturi joase, în vederea transplantului şi modalităţile optimale de realizare a acestei păstrări sau chiar aspecte de interes economic, cum ar fi conservarea prin frig a alimentelor.

În mod evident, problema centrală referitoare la starea apei în materia vie este aceea a apei citoplasmatice. Dar, anterior acestei probleme de bază, ne vom ocupa, succint, de distribuţia anatomică a apei în organismele vii, cu referire la organismul uman.

### 4.2.1. COMPARTIMENTAREA APEI ÎN ORGANISMUL UMAN

O primă distincţie este între *apa intracelulară*, reprezentînd mediul în care au loc reacţiile metabolice şi *apa extracelulară*, care constituie mediul imediat înconjurător al fiecărei celule. Apa intracelulară reprezintă 55% din totalul apei organismului, iar cea extracelulară 45%. Aceasta cuprinde, alături de fluidul interstiţial, şi fluidele circulante.

Evidenţierea diferitelor compartimente se face, în principiu, prin metode de diluţie. Varianta cea mai simplă este de a injecta în sistemul circulator coloranţi (de exemplu, roşu de Congo) sau soluţii coloidale (de exemplu, polivinilpirolidonă) care

nu pot trece prin pereții capilarelor, astfel încît diluția se produce numai în apa plasmatică (circulantă).

Dacă s-a introdus un volum $V_0$ de substanță-test cu concentrația $C_0$, iar în urma diluării în sistemul circulator concentrația respectivei substanțe în sînge este $C$, volumul $V$ de apă plasmatică în care s-a produs diluția este dat de relația: $V=V_0\left(\frac{C_0}{C}-1\right)$. Această relație a rezultat din condiția de conservare a substanței test: $V_0C_0=(V_0+V)\,C$, deci acest gen de determinări se bazează în mod esențial pe ipoteza rămînerii în fluidul circulator a întregii cantități de substanță test. Adsorbția ei pe suprafața capilarelor, ca și eventuala pătrundere în spațiile intercelulare, determină erori sistematice. Aceste erori pot fi reduse (dar nu eliminate total), folosind ca substanță test un izotop radioactiv, de exemplu $^{32}P$, cu care se marchează o cantitate cunoscută de hematii ale animalului respectiv. În acest caz, în locul concentrațiilor $C_0$ și $C$, în relația precedentă apar activitățile specifice $A_0$ și $A$ ale unității de volum sanguin inițial (după incubarea în mediu cu $^{32}P$) și după echilibrarea în sistemul circulator.

Pentru a se putea evidenția compartimentul apos interstițial, ca și apa intracelulară, se utilizează substanțe test (de regulă, marcate cu izotopi radioactivi), care să nu fie metabolizate și care să pătrundă în respectivele compartimente. Urmărindu-se cinetica distribuirii substanței test în ansamblul compartimentelor, se pot deduce volumele acestor compartimente. În cazul unei dispuneri în serie a compartimentelor (fig. 4.3, *A*) corespunzătoare, de exemplu, trecerilor plasmă-lichid interstițial-apă intracelulară, concentrația de substanță test existentă la un moment $t$ în primul compartiment, de unde poate fi dozată, variază după o sumă de exponențiale (atîtea cîte compartimente sînt), astfel:

$$C_1(t)=A\cdot e^{-\lambda_1 t}+B\cdot e^{-\lambda_2 t}+\dots$$

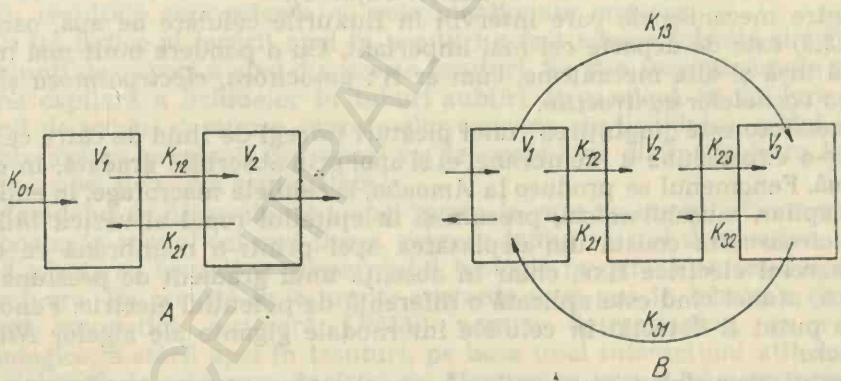



Fig. 4.3. *A* — dispunere în serie a compartimentelor; *B* — dispunere în serie și în paralel a compartimentelor.

Parametrii $A$, $B$, $\lambda_1$, $\lambda_2$ sînt funcții cunoscute (dar destul de complicate), depinzînd de volumele $V_1$, $V_2$, ... ale compartimentelor și de constantele cinetice $k_{12}$, $k_{21}$ etc. de trecere între aceste compartimente.

În cazul dispunerii compartimentelor atît în serie, cît și în paralel (fig. 4.3, *B*), dependența parametrilor $A$, $B$, $\lambda_1$, $\lambda_2$, ... de caracteristicile compartimentelor devine mai complicată, însă pentru foarte multe situații concrete, ca și pentru cazurile generale, ecuațiile au fost stabilite.

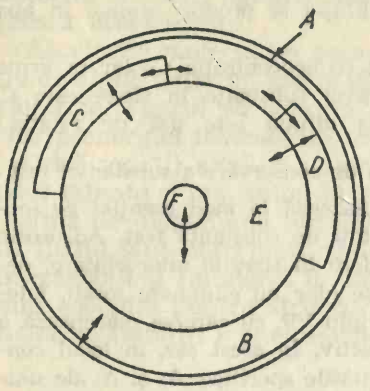



Fig. 4.4. Compartimentarea apei în organism şi schimburile între compartimente : *A* — apa plasmatică din sistemul vascular (7,5%); *B* — fluidul interstiţial şi limfa (20%); *C* — fluidul din ţesutul conjunctiv dens şi din cartilagii (7,5%); *D* — fluidul din oase (7,5%); *E* — apa intracelulară (55%); *F* — fluide delimitate de epitelii a căror activitate celulară le determină compoziţia : lichidul cefalorahidian, sinovial, pleural etc. (2,5%).

Combinînd rezultatele analizei compartimentale de tipul ecuaţiilor schiţate mai sus cu cele ale determinărilor directe pe organe izolate, s-a putut elabora schema de ansamblu a compartimentării apei în diferite organisme, de exemplu în corpul omenesc. În figura 4.4 sînt reprezentate aceste compartimente, cu ponderea lor relativă. Studiul compartimentelor lichide ale corpului este o problemă importantă a fiziologiei, deoarece diferitele modificări ale acestor compartimente corespund unor situaţii patologice frecvent întîlnite.

La nivel celular, intrarea şi ieşirea apei prin membrană determină umflarea şi, respectiv, ratatinarea celulei, aceste procese fiind de mare importanţă biologică, deoarece reglează volumul celular. Fluxurile de apă reflectă şi sînt determinate de modificările fie ale compoziţiei mediului exterior celulei, fie ale pompării active de către membrană a diferiţilor componenţi celulari. Pe baza datelor actuale, concluzia generală este că nu există transport activ de apă, în sensul cuplării directe între fluxul de apă şi utilizarea energiei metabolice (v. *Capit. 6*).

Dintre mecanismele care intervin în fluxurile celulare de apă, osmoza (v. *5.3.3*) este de departe cel mai important. Cu o pondere mult mai mică, există însă şi alte mecanisme, cum ar fi : *pinocitoza, electroosmoza* şi *acţiunea vacuolelor contractile.*

*Pinocitoza* este „înghiţirea" unei picături întregi de fluid de către celulă, printr-o expansiune a membranei ei şi apoi prin absorbţie gradată, în citoplasmă. Fenomenul se produce la *Amoeba,* la celulele macrofage, în endoteliul capilar, muşchii netezi, precum şi în epiteliul renal al vezicii biliare.

*Electroosmoza* constă din deplasarea apei printr-o membrană ce conţine sarcini electrice fixe, chiar în absenţa unui gradient de presiune osmotică, atunci cînd este aplicată o diferenţă de potenţial electric. Fenomenul a putut fi detectat în celulele internodale gigante ale algelor *Nitella* şi *Chara.*

*Efectul vacuolelor contractile.* În unele organisme primitive (protozoare, alge şi spongieri) există vacuole contractile ce pompează intermitent, în afara citoplasmei, fluid mai puţin concentrat decît citoplasma, probabil pentru a anula influxul de apă din mediul extern.

### 4.2.2. STĂRILE APEI INTRACELULARE

Problema stării fizice a apei intracelulare (liberă-legată-structurată) constituie terenul uneia din cele mai susţinute dispute ştiinţifice, începută încă din secolul trecut şi continuată cu aceeaşi intensitate pînă în prezent.

Studii datînd din primele decenii ale sec. XX au arătat că o parte din apa citoplasmatică : *a*) rezistă anormal la deshidratare ; *b*) nu îngheaţă chiar la temperaturi de —20 °C ; *c*) nu are proprietăţile obişnuite de solvent faţă de cristaloizi ; *d*) nu este transferată prin membrană în cadrul schimburilor osmotice dintre celule şi mediul extern.

Acestor proprietăţi le pot corespunde, respectiv, termenii de : *apă fixată, apă necongelabilă, apă nesolvantă, apă intransferabilă* (osmotic), dar cel mai adesea toate acestea sînt desemnate prin termenul global de *apă legată*. O mare parte din disputele existente în acest domeniu se datoresc folosirii nediferenţiate a termenului „legată", fără specificarea proprietăţii faţă de care apa respectivă nu se comportă ca „liberă".

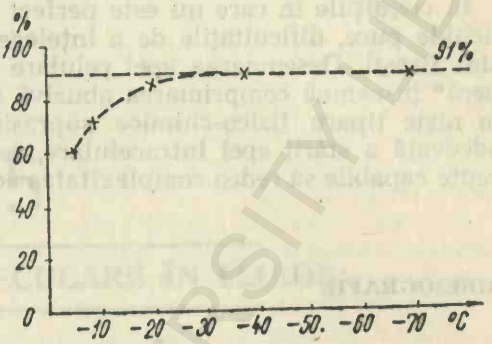



Fig. 4.5. Fracţiunea din apa celulară a drojdiei de bere, îngheţată la diferite temperaturi.

În criobiologie, apa legată este definită destul de vag drept acea fracţiune din apa celulară care nu îngheaţă, oricît s-ar coborî temperatura. Cu toate inerentele diferenţe între rezultate, se consideră că, în ţesuturile animale tipice, între 5—10% din apa tisulară nu îngheaţă, deci este apă legată din acest punct de vedere. Rezultate asemănătoare sînt obţinute şi în experienţele pe microorganisme de tipul drojdiei de bere. În figura 4.5 sînt reproduse rezultatele unei astfel de experienţe. Şi în experienţele de desicare se obţin rezultate concordante cu cele menţionate mai sus.

Ca un indice al legării apei în ţesuturi a fost adesea folosită şi scăderea presiunii de vapori a apei din aceste ţesuturi. Se ştie, însă, că simpla ascensiune capilară a lichidelor în tuburi subţiri se asociază cu scăderea presiunii de vapori deasupra suprafeţelor concave ale lichidului, astfel că din datele asupra presiunii de vapori nu se poate face distincţia între legarea reală a apei şi simpla capilaritate.

Metodelor de determinare a apei legate, la care ne-am referit anterior, li se poate, în modul cel mai firesc, reproşa faptul că sînt distructive, implicînd afectarea brutală a preparatului biologic în cursul procesului de determinare. Pe această linie, multe speranţe s-au pus în tehnicile de rezonanţă magnetică nucleară (*RMN*) pentru determinarea, în condiţii fiziologice, a stării apei în ţesuturi, pe baza unei interacţiuni atît de slabe cu sistemul de măsurare, încît să nu afecteze în vreun fel preparatul.

În principiu, prin metodele de *RMN* se pot obţine informaţii despre starea apei, prin intermediul tranziţiilor pe care le suferă în cîmp magnetic fie nucleele de H, fie cele de O ale apei. Se induce, printr-un cîmp magnetic constant, distribuirea nucleelor pe nivelele energetice cuantificate, corespunzătoare diferitelor orientări ale spinului nuclear faţă de cîmpul magnetic.

Concluziile la care au condus tehnicile de rezonanţă magnetică protonică sînt mult mai rezervate şi nuanţate decît simpla distincţie între apa liberă şi cea legată : anume, se consideră că în orice ţesut există, în afara

apei intercelulare, unul sau mai multe compartimente apoase intracelulare, atît în compartimentul extracelular, cît și în cele intracelulare existînd o mică fracțiune de apă „*imobilizată*“ în straturile de hidratare ale proteinelor (8—20%, în cazul mușchiului striat) și o proporție mare de apă obișnuită. Între aceste fracțiuni are loc un schimb continuu de molecule. De data aceasta, prin apa „imobilizată“ se înțelege apa de hidratare a proteinelor, deci legată cvasichimic.

În condițiile în care nu este perfect elucidată nici măcar structura apei lichide pure, dificultățile de a înțelege și imagina intuitiv structura apei sînt firești. Desemnarea apei celulare doar prin termenii „legată“ și „liberă“ înseamnă comprimarea abuzivă a unei realități mult mai complexe în niște tipare fizico-chimice suprasimplificatoare. Pentru o descriere adecvată a stării apei intracelulare, este de așteptat definirea unor concepte capabile să redea complexitatea acestei stări.

**BIBLIOGRAFIE**


Benezech, Ch., Llory, L. *Physique et biophysique*, vol. 1. Edit. Masson, Paris, 1973.

Dick, D. A. T. Ch 7 în: *„Membranes and Ion Transport“* (vol. 3). E. E. Bittar (ed.), Wiley Interscience, London, 1970.

Eisenberg, D., Kauzmann, W. *The Structure and Properties of Water.* Oxford Univ. Press, 1969.

Kayushin, L. P. (ed.) *Water in Biological Systems.* Consultants Bureau, New York, 1969.


BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITARĂ

# 5

# FENOMENE MOLECULARE ÎN FLUIDE

Fluidele sînt substanţe care au o coeziune moleculară relativ mică, datorită cărui fapt curg şi iau forma vasului în care sînt puse. Gazele şi lichidele (la temperatura obişnuită) sînt fluide. Amestecurile acestora sau amestecul lor cu unele solide sînt, de asemenea, fluide. Un amestec relativ omogen de două sau mai multe substanţe constituie o *soluţie.*

## 5.1. SOLUŢII

Spre deosebire de ceea ce se întîmplă în reacţiile chimice, unde se combină cantităţi fixe de substanţe, raporturile cantitative ale diverselor substanţe care compun o soluţie pot să varieze foarte mult. Într-o soluţie se găseşte de obicei o componentă majoră, care constituie mediul de dispersie sau *solventul* şi una sau mai multe substanţe dizolvate ce constituie faza dispersă sau *solvitul.*

### 5.1.1. TIPURI DE SOLUŢII

După starea fizică a componenţilor care participă într-o soluţie, deosebim soluţii : *gazoase, lichide* şi *solide.* Soluţiile de interes biologic sînt *soluţii complexe,* în care solventul este apa. Astfel, plasma sanguină este o soluţie complexă de solide, lichide şi gaze în apă.

Reamintim faptul că există mai multe moduri de a exprima concentraţia unei soluţii, adică raportul dintre solvit şi solvent. De exemplu, concentraţia poate fi exprimată, procentual, ca „grame de substanţă dizolvată/100 ml soluţie" (sau 100 g soluţie). Întrucît numărul de particule din unitatea de masă depinde de greutatea moleculară, un mod mai folositor de exprimare este în concentraţii molare şi, respectiv, molale.

*Concentrația molară* (sau *molaritatea*) se definește :

$$C_M = \frac{\text{număr de moli de substanță dizolvată}}{\text{1 litru soluție}}$$

*Concentrația molală* (sau *molalitatea*) este :

$$C_m = \frac{\text{număr de moli de substanță dizolvată}}{\text{1 kg solvent}}.$$

După mărimea particulelor dizolvate, soluțiile pot fi *ionice*, *moleculare* și *coloidale*. O soluție ionică tipică este aceea de NaCl în apă. Soluțiile apoase de glucoză sau uree sînt soluții moleculare. Soluțiile ionice și moleculare au un grad uniform de dispersie, iar particulele lor nu sînt vizibile la ultramicroscop (diametrul lor este în jur de $10^{-8}$ cm). Se mai numesc și *soluții „adevărate"*.

Soluțiile coloidale (coloizii) sînt sisteme disperse heterogene. Dispersia poate fi caracterizată prin mărimea numită *grad de dispersie*, care arată cîte particule de diametru $a$ încap pe distanța de 1 cm ($\delta = (1/a)\ \text{cm}^{-1}$). În cazul soluțiilor „adevărate", rezultă $\delta = 1/10^{-8}\ \text{cm} = 10^{8}\ \text{cm}^{-1}$. Soluțiile coloidale au un grad de dispersie cuprins între $10^{7}$ și $10^{5}\ \text{cm}^{-1}$. Pentru un grad de dispersie între $10^{5}$ și $10^{3}\ \text{cm}^{-1}$, sistemele disperse se numesc *suspensii*, dacă particulele dispersate sînt solide, și *emulsii*, dacă particulele sînt lichide. Cînd faza dispersă este alcătuită din particule de mărimi diferite sistemul se numește *polidispers*. Sîngele și laptele sînt exemple de sisteme *polifazice* și *polidisperse*. Laptele constituie, în același timp, o emulsie într-o soluție coloidală complexă.

### 5.1.2. PROPRIETĂȚILE SOLUȚIILOR IONICE

**Disociația electrolitică.** După cum le arată și numele, soluțiile ionice sînt formate din *ioni*, adică din particule încărcate electric. Ionii rezultă în urma disocierii unor molecule. În general, o substanță $CA$ va disocia într-un ion pozitiv (*cation*) și unul negativ (*anion*) :

$$CA \rightleftarrows C^{+} + A^{-}. \tag{5.1}$$

După cum arată săgețile, procesul este reversibil. La un moment dat se stabilește un echilibru dinamic, ionizarea fiind egală cu molizarea (procesul invers ionizării). Nivelul la care se stabilește echilibrul este caracterizat prin constanta de disociere $K_d$.

$$K_d = \frac{[C^{+}]\,[A^{-}]}{[CA]}. \tag{5.2}$$

**Conductibilitatea electrică.** Soluțiile ionice se mai numesc și *soluții de electroliți*. Datorită purtătorilor ionici de sarcină, la aplicarea unei tensiuni electrice asupra unui electrolit va apărea în soluție un curent electric. Este vorba, deci, despre o conductibilitate electrică a acestor soluții. Pentru compararea conductibilității soluțiilor ionice se folosește noțiunea de *conductibilitate echivalentă*. Aceasta se definește prin relația :

$$\Lambda = \gamma \cdot V = \frac{\gamma}{C}, \tag{5.3}$$

unde $V$ este volumul (în $cm^3$), $c$=concentrația (în echivalenți/$cm^3$), iar $\gamma$=*conductibilitate specifică*. Conductibilitatea specifică a unei soluții este egală cu conductibilitatea acelei soluții plasate într-o „celulă electrolitică" ai cărei electrozi au suprafața de 1 $cm^2$ și se află la distanța de 1 cm unul față de altul. Această conductibilitate se exprimă în $\Omega^{-1} \cdot cm^{-1}$. Conductibilitatea echivalentă se măsoară în $cm^2$.

Pentru o soluție de diluție foarte mare conductibilitatea echivalentă (notată cu $\Lambda_\infty$) este egală cu suma conductibilităților ionilor componenți :

$$\Lambda_\infty = \lambda_+ + \lambda_- . \tag{5.4}$$

În acest caz, toți ionii participă la fenomenele de transport electric. În soluții de concentrație finită, numai o fracțiune ($f$) din totalul ionilor este disponibilă pentru transport sau alte procese moleculare. Aceasta se datorește în primul rînd scăderii mobilității unor ioni prin interacțiuni electrostatice (în condiții de concentrație ridicată). Mărimea $f$ se numește *coeficient de activitate ; activitatea* ($a$) reprezintă acea parte din concentrația totală care participă la fenomenul de transport și alte procese moleculare, adică $a = f \cdot c$. Pentru soluțiile diluate, $f = 1$ și, deci, $a = c$. De aceea, se utilizează de obicei concentrații și nu activități cînd se lucrează cu soluții relativ diluate. Acest mod de tratare este avantajos, întrucît concentrația este o mărime ușor accesibilă experimental, pe cînd activitatea este mai greu de determinat.

**Tăria ionică.** Multe caracteristici ale soluțiilor ionice depind de interacțiunile electrostatice dintre sarcinile ionilor. Forța electrostatică între o pereche de ioni cu sarcina dublă este de patru ori mai mare decît forța dintre o pereche de ioni ce poartă cîte o singură sarcină. Pentru a include asemenea efecte de sarcină și a putea compara din acest punct de vedere soluții de concentrații și compoziții diferite, s-a introdus noțiunea de „tărie" ionică, definită prin următoarea relație :

$$I = \frac{1}{2} \sum_i m_i z_i^2 , \tag{5.5}$$

unde $m_i$ reprezintă concentrația molală a ionului $i$, iar $z$ este numărul de sarcini. Pentru soluții relativ diluate, formula practică de calcul este :

$$I = \frac{1}{2} \sum_i c_i z_i^2 , \tag{5.6}$$

unde $c_i$ reprezintă concentrația molară a ionului $i$.

**Concentrația ionilor de hidrogen ; *p*H-ul.** De mare importanță din punct de vedere biologic este concentrația ionilor de hidrogen din soluție. O modalitate practică de exprimare a acestei concentrații este prin intermediul noțiunii de *p*H. Prin *p*H se înțelege *logaritmul cu semnul minus al concentrației ionilor de hidrogen din soluție*, adică :

$$p\mathrm{H} = \mathrm{colog}\,[H^+] = -\log [H^+] . \tag{5.7}$$

Concentrația ionilor de hidrogen din apa pură, care disociază foarte puțin, este $10^{-7}$, adică $p\mathrm{H} = -\log 10^{-7} = 7$. O soluție care are $p\mathrm{H} = 7$ se spune că este *neutră*. Dacă $p\mathrm{H} < 7$ soluția este *acidă*, iar dacă $p\mathrm{H} > 7$ soluția este *bazică* (sau *alcalină*).

Conform concepției lui J. N. Brönsted și T. M. Lowry, o substanță capabilă de a dona protoni (ioni de hidrogen) se numește *acid*, iar una capabilă de a accepta protoni se numește *bază*. De exemplu, acidul acetic ($CH_3COOH$) și anionul acetat ($CH_3COO^-$) formează o pereche conjugată acid-bază.

Acizii care au afinitate înaltă pentru protoni se numesc *acizi slabi*, iar cei cu afinitate scăzută se numesc *acizi tari*. Tendința de disociere a unui acid este exprimată prin constanta sa de disociere. Pentru un acid oarecare HA, aceasta este :

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} . \qquad (5.8)$$

Dacă se aplică asupra acestei formule o transformare logaritmică, se obține o expresie asemănătoare cu *p*H-ul, care se notează *p*K :

$$pK = \text{colog } K = -\log K. \qquad (5.9)$$

Acizii puternici au *p*K-uri scăzute, iar cei slabi *p*K-uri ridicate.

Între *p*H și *p*K există o legătură exprimată prin așa-numita *ecuație a lui Henderson-Hasselbalch*. Pentru deducerea ei folosim ecuația (5.9), în care introducem relația (5.8). Prin aplicarea cologaritmului, rezultă :

$$-\log [H^+] = -\log K - \log \frac{[HA]}{[A^-]} ,$$

sau :

$$pH = pK - \log \frac{[HA]}{[A^-]} = pK + \log \frac{[A^-]}{[HA]} . \qquad (5.10)$$

Într-o formă mai generală, putem scrie :

$$pH = pK + \log \frac{[\text{acceptor de protoni}]}{[\text{donor de protoni}]} . \qquad (5.11)$$

Evident că în cazul în care $[A^-] = [AH]$ rezultă $pH = pK$, adică *p*K-ul unui acid este numeric egal cu *p*H-ul soluției, cînd concentrațiile donorului și acceptorului de protoni sînt egale. În general, variind *p*H-ul prin adăugare de echivalenți $OH^-$ (sub formă de NaOH, de exemplu), se obține o curbă de titrare al cărei punct de inflexiune corespunde cu valoarea *p*K-ului. Asemenea curbe de titrare sînt date în figura 5.1, pentru trei acizi diferiți.

Urmărind curbele de titrare se poate observa că schimbarea cea mai mică de *p*H, pentru o anumită cantitate de echivalenți $OH^-$ se produce în jurul punctului mediu de titrare (inflexiune), adică pentru $pH = pK$. Capacitatea de a rezista schimbării *p*H-ului se numește *capacitate* (sau *putere*) *tampon*, iar sistemele chimice care realizează acest lucru poartă numele de *sisteme tampon*. În general, un „tampon" este format dintr-un acid slab sau bază slabă și sarea lor.

Să considerăm un sistem format dintr-un acid slab și sarea sa. Dacă se adaugă ioni $OH^-$ la un asemenea sistem, acidul poate fi considerat ca un rezervor de ioni $H^+$ care vor reacționa cu $OH^-$, rezistînd schimbării *p*H-ului. Invers, dacă se adaugă ioni $H^+$ sarea furnizează anioni $A^-$ care reacționează cu $H^+$ și dau un acid slab ionizat. În schimb, sistemele care conțin un acid sau bază tare nu sînt potrivite din

punct de vedere biologic, întrucît la concentrația în care ar putea servi ca tampon, *p*H-ul lor este foarte departe de neutralitate.

În lumea vie există organisme care pot trăi la valori extreme ale *p*H-ului. Astfel, bacteria *Thiobacillus thiooxidans* suportă un *p*H apropiat de zero, pe cînd *Plectonema nostocorum* suportă un *p*H = 13. În general însă, organismele sînt adaptate să trăiască la *p*H-uri mai apropiate de punctul neutru. Chiar dacă *p*H-ul mediului extern este mult diferit de 7, *p*H-ul mediului intern variază destul de puțin în jurul valorii de neutralitate. Aceasta este cu atît mai evident, cu cît organismul se află pe o treaptă mai înaltă de evoluție. La om de exemplu, *p*H-ul sîngelui variază în condiții normale între 7,30 și 7,45. Un *p*H < 7 sau *p*H > 7,8 duce la moarte. Valoarea *p*H-ului afectează în mod direct sau indirect o serie de reacții biochimice sau procese fiziologice. Constanța *p*H-ului în limitele tolerate de celulă este asigurată prin prezența unor *sisteme „tampon"*. Cele mai cunoscute sisteme de acest fel sînt :

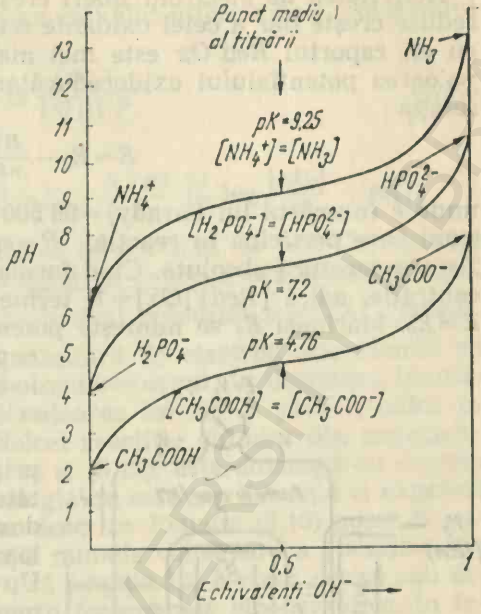



Fig. 5.1. Curbe de titrare acid-bază, cu indicarea principalelor „specii" ionice la începutul, mijlocul și sfîrșitul titrării.

— *fostfat monobazic/fosfat dibazic* ($H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$) ;
— *acid carbonic/bicarbonat* ($H_2CO_3/HCO_3^-$) ;
— *proteină/proteinat* (diverse).

O mențiune specială merită sistemul acid carbonic/bicarbonat, al cărui $pK = 3{,}8$, ceea ce este mult în afara domeniului normal de *p*H al sîngelui. Utilitatea sa ca tampon se explică prin faptul că donatorul de protoni (acidul carbonic) este în echilibru cu $CO_2$ dizolvat :

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons CO_2 + H_2O.$$

La rîndul său, $CO_2$ dizolvat este în echilibru cu $CO_2$ gazos, la nivelul alveolelor pulmonare. În felul acesta, sistemul poate opera efectiv ca tampon, la un *p*H apropiat de 7.

**Potențialul oxidoreducător ; ecuația lui Nernst.** Noțiunea de „potențial oxidoreducător" (sau *potențial redox*) a fost introdusă în legătura cu capacitatea unui sistem de a dona sau primi electroni. În reacțiile de oxidoreducere există întotdeauna doi parteneri, fără ca între ei să se formeze o legătură chimică. Elementul care acceptă electroni și se reduce se numește *oxidant* (*Ox*), iar cel care cedează electroni și se oxidează se numește *reducător* (*Red*). În mod schematic, se poate scrie :

$$Ox + ne^- \rightleftharpoons Red. \qquad (5.12)$$

Activitatea de electroni liberi crește pe măsură ce concentrația formei reduse crește (iar a celei oxidante scade), respectiv este cu atît mai mare, cu cît raportul *Red/Ox* este mai mare. Din considerente termodinamice, valoarea potențialului oxidoreducător este legată de raportul acesta prin relația :

$$E = E_0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Red]}{[Ox]}, \qquad (5.13)$$

unde $F$ (numărul lui Farady) = 96 500 C, $n$ este numărul de (moli de) electroni care participă în reacție, $R$ = constanta universală a gazelor, iar $T$ = temperatura absolută. Cînd forma redusă și oxidată sînt egale în concentrație, adică $[Red]/[Ox] = 1$, termenul logaritmic este egal cu zero iar $E = E_0$. Mărimea $E_0$ se numește *potențial normal de oxidoreducere*. Orice cuplu redox este caracterizat prin valoarea lui $E_0$, care se găsește de obicei tabelată.

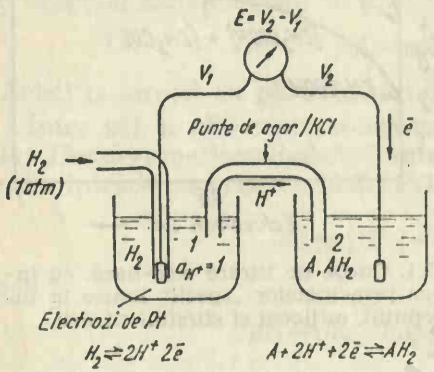



Fig. 5.2. Măsurarea potențialelor de electrod. Două compartimente electrolitice (1 și 2) sînt unite printr-o punte de agar îmbibată cu soluție de KCl și prin două fire metalice terminate prin electrozi de platină (*Pt*). Reacțiile care au loc în fiecare compartiment sînt prezentate dedesubtul lor. Potențialul electrodului din compartimentul 1, peste care se barbotează hidrogen gazos, este considerat egal cu zero. În acest compartiment are loc oxidarea hidrogenului molecular, iar în compartimentul 2 reducerea agentului oxidant $A$ la $AH_2$, cele două reacții fiind cuplate prin curgerea electronilor și protonilor în sensul arătat pe figură. Tendința electronilor de a trece din *1* în *2* este măsurată ca forță electromotoare sau diferență de potențial de către voltmetrul (*V*) din circuitul extern.

Există, de fapt, două metode de a exprima și, respectiv, de a măsura capacitatea oxidoreducătoare a unui cuplu redox. În primul rînd se poate utiliza valoarea energiei libere de oxidare ($\Delta G_{ox}$). Un compus care are o valoare negativă mare a lui $\Delta G_{ox}$ este un reducător bun. Hidrogenul gazos ($H_2$) este un exemplu de acest fel. Energia sa liberă de combustie (la $pH = 7$) este —273 kJ/mol. Între energia liberă și potențialul oxidoreducător există relația :

$$\Delta G = -nFE, \qquad (5.14)$$

unde $n$ și $F$ sînt aceleași simboluri ca în (5.13).

Un alt mod de a măsura capacitatea de oxidoreducere este prin intermediul potențialelor de electrod. Pentru o mai bună înțelegere a acestui fapt, ne vom referi la figura 5.2. Afinitatea pentru electroni, demonstrată de unul din compartimentele electrolitice (sau „semicelule", cum se mai spune), se numește *potențial de electrod* și se măsoară prin valoarea forței electromotoare din circuitul exterior. În condițiile din figură, valoarea acestei forțe este egală cu $V_2$ (deoarece, convențional, potențialul electrodului de $Pt/H_2$, $V_1 = 0$). În măsurătorile curente se folosește însă ca referință un electrod de calomel, al cărui potențial este exact cunoscut prin compararea cu un electrod de $Pt/H_2$, astfel că, în general, $E = V_2 - V_1$. Dacă A, $H^+$ și $AH_2$ au fiecare activitatea $a = 1$, atunci potențialul măsurat se numește *potențial standard* (de electrod). În cazul în care activitățile (în

practică, concentrațiile) celor trei componenți sînt diferite de 1, potențialul se scrie analog cu ecuația (5.13), adică :

$$E = E_0 - \frac{RT}{2F} \ln \frac{[AH_2]}{[A]\,[H^+]^2}. \qquad (5.15)$$

Scriind ecuația (5.15) ca :

$$E = E_0 - \frac{RT}{2F}\left(\ln \frac{[AH_2]}{[A]} - 2 \ln [H^+]\right) = E_0 - \frac{2{,}3\,RT}{F}\left(\frac{1}{2} \log \frac{[AH_2]}{[A]} + pH\right),$$

se observă clar dependența potențialului de electrod de *p*H. Ori de cîte ori concentrația formei oxidante este egală cu concentrația formei reduse, rezultă că $E = E_0 - \frac{2{,}3\,RT}{F}\,pH = E_0'$, așa-numitul *potențial standard aparent*. Se vede că la un *p*H = 0, potențialul standard de electrod este identic cu ceea ce am numit *potențial normal de oxidoreducere*. În literatura biochimică se obișnuiește să se folosească valoarea lui $E_0'$ la *p*H = 7, adică în condițiile în care se desfășoară de obicei reacțiile chimice din organism.

Se poate observa că ecuația (5.13), ca și (5.15), este analoagă cu *ecuația lui Henderson-Hasselbalch* (5.10). Analogia nu este pur formală ci exprimă natura comună (ionică) a fenomenelor descrise. Ecuația (5.13) poate fi numită, de fapt, *ecuația lui Nernst*, după numele celui care a stabilit-o. Se va arăta, pe parcursul acestei lucrări, că ecuația lui Nernst, scrisă sub diferite forme, are o largă aplicabilitate în fenomenele bioenergetice. În fenomenele de transport prin membrană, dacă particulele transportate sînt încărcate electric, echilibrul (electrochimic) se va stabili atunci cînd rezultantele forțelor electrice și chimice în cele două compartimente separate de membrană sînt egale. Dacă $c_1$ și $c_2$ sînt concentrațiile ionului considerat în compartimentul 1 și, respectiv, 2, din condiția de echilibru se poate scrie valoarea diferenței de potențial electric, exprimată printr-o *ecuație de tip Nernst :*

$$E = \frac{RT}{nF} \ln \frac{c_1}{c_2}, \qquad (5.16)$$

unde $n$ reprezintă numărul sarcinilor electrice ale ionului considerat, iar restul simbolurilor au fost definite anterior.

### 5.1.3. SOLUȚII COLOIDALE

Am amintit anterior că soluțiile coloidale au un grad de dispersie $\delta = 10^7 - 10^5\ cm^{-1}$. După structura particulelor coloidale, coloizii pot fi împărțiți în trei categorii : de *dispersie*, de *asociație* și *macromoleculari*.

Coloizii de asociație se mai numesc și *coloizi micelari*. O *micelă* reprezintă o particulă aproximativ sferică, formată din molecule amfifile care au capetele polare îndreptate spre exterior, iar cele apolare (hidrofobe) spre interior. Un exemplu tipic de soluție micelară este aceea de săpun (în apă). Pe baza forțelor de interacțiune hidrofobă și a structurii amfifile speciale a moleculelor de fosfolipide, se poate explica și tendința acestora de a agrega, formînd structuri veziculare cu strat dublu de molecule (v. *Capit. 6*).

Spre deosebire de coloizii micelari și de dispersie, unde legăturile dintre diferiții constituenți ai particulei coloidale sînt reprezentate de valențe secundare, în cazul coloizilor macromoleculari este vorba de legături pri-

mare, interatomice, întrucît constituenții sînt tocmai atomii macromoleculelor. Proteinele, amidonul, celuloza ș.a. sînt exemple de asemenea coloizi. În cadrul acestei categorii, după forma moleculelor, deosebim *coloizi liniari și sferocoloizi.* Coloizii liniari sînt alcătuiți din catene (lanțuri) și au rezistență mecanică și viscozitate mare. Sferocoloizii au viscozitate mai mică, deplasîndu-se mai ușor. În prima categorie sînt cuprinse mai ales proteine de structură (miozina, fibrina etc.) ; în grupa a doua sînt cuprinse în special proteine cu rol funcțional (globuline, enzime etc.).

După relația particulelor cu solventul, deosebim *coloizi liofili* și *liofobi.* Coloizii liofili sînt cei care au afinitate pentru solvenți. De exemplu, coloizii hidrofili au afinitate pentru apă. În cazul lor, apa scaldă particula, o imbibă și chiar se leagă de unele grupări chimice. Dacă presiunea de imbibiție este mai mare decît forțele intermoleculare, spunem că substanța coloidală se prezintă sub formă de *sol* ; dacă presiunea este mai mică, substanța coloidală este un *gel.* În general, prin imbibiție sau diferite acțiuni mecanice gelurile se transformă în sol. Invers, sub acțiunea unor factori ca temperatura, pierderea apei, contactul cu diverși ioni etc., coloizii coagulează și precipită, adică particulele se separă de solvent formînd un depozit sub formă de praf sau „fulgi". Prin această coagulare solul trece în gel. Gelul poate fi considerat ca un caz special al stării coloidale, soluția avînd în acest caz însușiri intermediare între lichid și solid.

Importanța coloizilor pentru viață este fundamentală, întrucît nu se cunoaște vreo formă de viață în lipsa coloizilor macromoleculari, citoplasma fiind un astfel de coloid.

Se pune însă întrebarea : în ansamblu, citoplasma este lichidă sau nu ? Proprietățile de lichid ar fi : formează picături sferice care confluează ; emite pseudopode ; are curenți interiori ; poate fi filtrată ; se întinde pe suprafața apei și urcă în capilare. Cu solidele, se aseamănă prin elasticitate (constatată prin micromanipulări). Toate aceste însușiri mixte, de lichid și solid, ar îndreptăți afirmația că citoplasma este un gel. Spre deosebire de acesta însă, ea nu cedează apa prin presiune. Densitatea citoplasmei este puțin mai mare ca a apei, pe cînd viscozitatea este de 6—30 ori mai mare. Aceste caracteristici sînt atribuite unei ipotetice structuri interne a citoplasmei. Se presupune că există o structurare ce conferă formă, elasticitate și contractilitate citoplasmei. Este vorba de *teoria citoscheletului,* propusă de Frey-Wyssling. Rolul structurilor în cadrul citoplasmei este, de asemenea, evidențiat pregnant în *teoria biostructurii* a acad. Eugen Macovschi.

## 5.2. FENOMENE DE SUPRAFAȚĂ

Vom prezenta aici anumite fenomene moleculare care apar la suprafața de contact dintre două faze, adică la *interfețe.*

### 5.2.1. TENSIUNEA SUPERFICIALĂ

La suprafața liberă a unui lichid, adică la contactul dintre faza lichidă și gazoasă (aer+vapori de lichid), moleculele din stratul superficial au o poziție aparte în raport cu forțele moleculare care se exercită asupra lor. În

timp ce o moleculă oarecare din interior este atrasă în mod simetric (egal din toate părțile) de către moleculele învecinate, o moleculă din stratul superficial este supusă unei atracții notabile numai dinspre interior și părțile laterale (fig. 5.3). De aceea, pătura de la suprafață se comportă ca o membrană elastică ce tinde să se strîngă. Se poate considera că există o forță tangențială la suprafața lichidului care apare ca urmare a fenomenelor moleculare discutate mai sus și care se numește *tensiune superficială*. Dacă se așază un inel pe suprafața unui lichid, se poate măsura o anumită forță de rezistență întîmpinată la desprindere. Această forță este proporțională cu lungimea sau conturul inelului (1) și cu tensiunea superficială $\sigma$, adică $F=\sigma \cdot l$. De aici rezultă relația de definire a tensiunii superficiale :

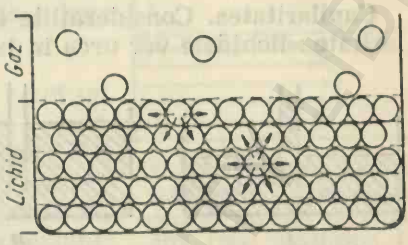


Fig. 5.3. Ilustrarea originii moleculare a fenomenului de tensiune superficială. Prin săgeți sînt indicate forțele care acționează asupra unei molecule din stratul superficial și, respectiv, din interiorul lichidului.

$$\sigma = \frac{F}{l} \cdot \qquad (5.17)$$

Unitatea de măsură în S.I. este N/m ; unități tolerate : dyn/cm ; erg/cm$^2$.

Existența tensiunii superficiale explică multe fenomene din natură. Datorită acestei forțe, două picături care se ating tind să se contopească. Picătura mai mare, care rezultă, va avea o suprafață relativă (=suprafață/volum) mai mică și, respectiv, o energie de suprafață relativ mai mică. Fenomenele de suprafață exprimă deci evoluția unui sistem spre o stare de echilibru, caracterizată printr-un minim energetic.

Valoarea tensiunii superficiale este influențată de diferiți factori, ca : temperatură, concentrație de săruri și diverse substanțe. Dintre acestea, o menționă specială se cuvine așa-numitelor *substanțe tensioactive*, care au proprietatea de a micșora tensiunea superficială, cum sînt : alcolii, acizii organici, diverșii detergenți etc.

Tensiunea superficială este un factor care condiționează unele fenomene din lumea vie. Însăși forma celulelor libere, în general sferică, este condiționată de acest factor. Desigur, celula poate avea și o altă formă, dar menținerea unei asemenea forme se face cu cheltuială suplimentară de energie. Proprietățile amiboidale ale unor celule implică modificări locale ale tensiunii superficiale, modificări atribuite activității unor enzime proteolitice. Unele animale (mai ales insecte) folosesc pentru locomoție proprietățile elastice ale membranei superficiale a apei (*Hydrometra, Halobates* etc.). Gasteropodul *Aeolis* plutește pe un strat de mucus pe care îl secretă, a cărui densitate este mai mică decît a apei, dar a cărui tensiune superficială este mai mare.

### 5.2.2. CAPILARITATEA ȘI ADSORBȚIA

La contactul dintre suprafața unui solid și cea a unui lichid apare o forță de atracție sau de adeziune. Cînd coeziunea moleculelor lichidului este mai mare decît adeziunea la peretele solid, spunem că lichidul nu udă

pereții vasului. Astfel de lichide formează *meniscuri convexe*. Dacă coeziunea este mai mică decît adeziunea, lichidul udă pereții formînd *meniscuri concave*. La rîndul lor, solidele care sînt udate de lichid se numesc *liofile*, iar cele care nu sînt udate *liofobe*. Un solid poate fi liofil față de apă și liofob față de alt lichid. De exemplu, sticla este hidrofilă și, în același timp, mercurofobă.

**Capilaritatea.** Considerațiile de mai sus explică și fenomenele de capilaritate : lichidele vor urca în tuburile capilare liofile și vor coborî în cele liofobe (fig. 5.4), abătîndu-se de la principiul vaselor comunicante cu atît mai mult, cu cît raza tubului este mai mică.

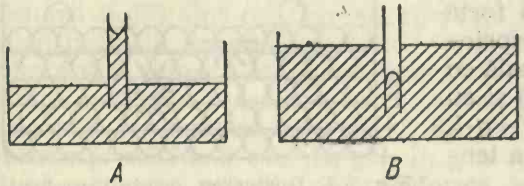


Fig. 5.4. Fenomene de capilaritate : *A* — ascensiune capilară (și menisc concav); *B* — depresiune capilară (și menisc convex).

O coloană de lichid capilar care este fragmentată prin bule de gaze opune o mare rezistență la înaintare, deoarece trebuie învinsă, în afară de forța de adeziune, și tensiunea superficială ce apare la nivelul fiecărui menisc realizat de bulele gazoase. Acest fenomen se poate întîmpla în organismul animal în cazul emboliilor gazoase, cînd pătrunderea de gaze în sînge poate bloca vasul capilar, fapt ce determină uneori moartea prin asfixie sau epuizarea inimii. Fără a insista asupra rolului jucat de capilaritate în lumea vie vom aminti totuși două aspecte foarte importante :

1) capilaritatea solului ca factor indispensabil pentru reținerea și circulația apei, de unde este folosită apoi în mod treptat de către plante. Un sol fără capilare își pierde apa repede ;

2) capilaritatea ca factor de ascensiune a sevei brute la plante (alături de alte forțe).

**Adsorbția.** Reprezintă fenomenul de fixare pe suprafața unui solid sau lichid a unuia sau mai multor straturi de molecule străine. Adsorbția trebuie deosebită de *absorbție*, cînd fixarea are loc în toată masa unui solid. Fenomenul adsorbției este în mare măsură reversibil, prin *desorbție*. Cele două procese au un anumit grad de selectivitate și, de aceea, pot fi folosite pentru separarea prin eluție (desorbție), cu solvenți potriviți, a diferite substanțe fixate pe o coloană de material poros sau pe o hîrtie specială (metoda cromatografică de separare a amestecurilor).

## 5.3. FENOMENE DE TRANSPORT

În această categorie sînt cuprinse cîteva fenomene moleculare asociate cu transportul de substanță în fluide și în special în lichide.

### 5.3.1. VISCOZITATEA

Dacă se măsoară viteza de curgere a unui lichid într-un tub cilindric, la diferite distanțe de axul tubului, se constată că această viteză este maximă de-a lungul axului și minimă la pereți. Se spune că distribuția vitezelor

este parabolică, deoarece într-o secțiune longitudinală prin tub valorile vitezelor urmează, grafic, o parabolă (fig. 5.5). Faptul poate fi explicat considerînd că lichidul curge sub forma unor lame concentrice (curgere *laminară*), care se freacă una de alta și de peretele tubului (cea externă). Forța de frecare este dependentă de natura lichidului, de suprafața de contact dintre lame ($S$) și de gradientul de viteză ($dv/dx$). Valoarea acestei forțe este dată de o lege a lui Newton, care se redă astfel :

$$F = \eta \cdot S \frac{dv}{dx}, \qquad (5.18)$$

unde $\eta$ a fost denumit *coeficient de viscozitate*. Cu cît acest coeficient este mai mare, cu atît forța de frecare este mai mare. Viscozitatea ar reprezenta, deci, un fel de frecare internă, datorată coeziunii dintre moleculele în contact. Coeficientul $\eta$ se mai poate numi și *viscozitate absolută*. Unitatea de măsură în sistemul internațional (S.I.) este *Poiseuille*-ul ($1\ P = 1\ N \cdot s \cdot m^{-2}$). În sistemul C.G.S. unitatea de măsură se numește *poise* ($1\ N \cdot s \cdot m^{-2} = 10$ poise). Prin raportarea la densitate, se obține *viscozitatea cinematică* ($\eta/\rho$). Unitatea S.I. este $m^2 s^{-1}$, iar unitatea C.G.S. se numește *Stockes* ($1\ m^2 s^{-1} = 10^4$ stockes). Prin raportarea lui $\eta$ (în cazul unei soluții) la viscozitatea solventului ($\eta_0$) se obține *viscozitatea relativă* $\eta/\eta_0$. Raportul $(\eta - \eta_0)/\eta_0 = \eta_{sp}$ se numește *viscozitate specifică*. Ea caracterizează schimbarea viscozității solventului datorită prezenței unei substanțe dizolvate. Viscozitatea crește în general odată cu creșterea concentrației (c). Raportul $\eta_{sp}/c$ se numește *viscozitate redusă*. Pentru unele lichide în curgere laminară, viscozitatea redusă rămîne constantă odată cu creșterea concentrației. Asemenea lichide se numesc *newtoniene*. La soluțiile coloidale de concentrații mari, în special coloizi liniari, legea lui Newton nu se respectă (v. ecuația 5.18). Astfel de lichide se numesc *nenewtoniene*.

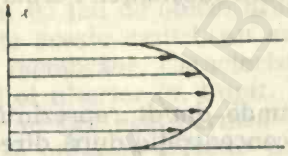


Fig. 5.5. Distribuția parabolică a vitezelor de curgere într-un tub cilindric (vezi explicația în text).

Dacă viteza de curgere depășește o anumită limită, curgerea nu mai este laminară (sub formă de lame) ci *turbulentă* (cu vîrtejuri). Viteza critică (la care curgerea devine turbulentă) depinde de viscozitatea cinematică și de raza tubului :

$$v_{crit} = Re \frac{\eta}{\rho \cdot r}, \qquad (5.19)$$

unde $Re$ reprezintă *numărul lui Reynolds* și este o constantă caracteristică lichidului. Pentru circulația sîngelui în artere, $Re \cong 1\,000$.

### 5.3.2. DIFUZIA

Prin difuzie se înțelege fenomenul de pătrundere a moleculelor unei substanțe printre moleculele alteia (altora). Acest proces poate avea loc în gaze, lichide și chiar solide, iar substanța care difuzează este de obicei gazoasă sau lichidă. Acest proces se datorește agitației termice a moleculelor fluidelor care tind să ocupe tot volumul ce le stă la dispoziție. Procesul de difuzie stă la baza egalizării spontane a diferențelor de presiune,

de concentrație sau temperatură din natură. La rîndul lor, asemenea diferențe direcționează și accelerează procesul de difuzie.

Legile fizice care guvernează difuzia se numesc *legile lui Fick* :

1. Prima lege leagă cantitatea de substanță difuzată în unitatea de timp de suprafața de difuzie $S$, de gradientul de concentrație și, desigur, de natura substanței. Forma diferențială a legii se scrie :

$$\frac{dm}{dt} = -DS\frac{dc}{dx}, \tag{5.20}$$

unde $dm/dt$ reprezintă rata sau viteza de difuzie, $dc/dx$=gradientul de concentrație după direcția $x$, iar $D$= o caracteristică a substanței numită *coeficient de difuzie*.

Datorită procesului de difuzie, concentrația soluției într-un anumit punct al spațiului variază în timp. Pe de altă parte, gradientul de concentrație, la un anumit moment, variază în spațiu.

2. Legea a doua a lui Fick leagă variația concentrației în timp ($dc/dt$) de variația în spațiu a gradientului de concentrație ($d^2c/dx^2$). O reprezentare grafică, menită să ușureze înțelegerea și interpretarea celor două legi, este dată în figura 5.6. Cea de a doua lege se redă, matematic, astfel :

$$\frac{dc}{dt} = -D\frac{d^2c}{dx^2}. \tag{5.21}$$

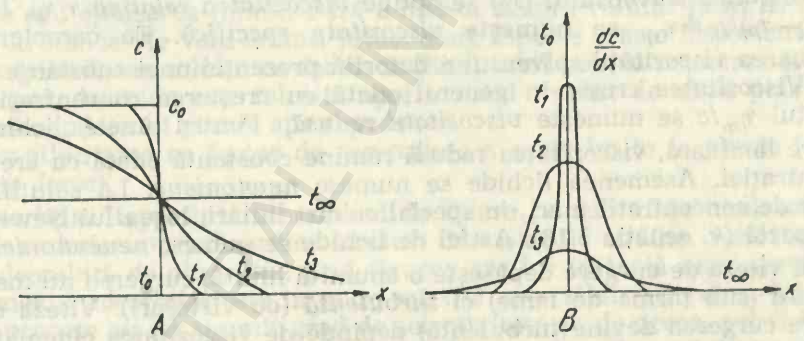



Fig. 5.6. *A* — distribuția spațială a concentrației la diferite momente de timp după începerea procesului de difuzie, ca urmare a punerii în contact a soluției cu solventul său (momentul $t_0$); *B* — variația în spațiu a gradientului de concentrație la diferite momente de timp după începerea difuziei.

Pentru substanțele micromoleculare și pentru sferocoloizi viteza de difuzie (respectiv coeficientul de difuzie, $D$) scade odată cu creșterea diametrului moleculei, conform relației :

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r}. \tag{5.22}$$

Din această formulă rezultă că viteza de difuzie este proporțională cu temperatura absolută ($T$) și invers proporțională cu viscozitatea ($\eta$). Acest ultim aspect explică de ce difuzia într-un gel sau solid este mult mai înceată decît într-un fluid.

Fenomenul de difuzie are un rol esențial pentru viață. El intervine în schimburile dintre organism și mediu, respectiv în schimburile dintre celulă și mediul său, precum și între diferitele compartimente celulare. În lumea vie există organe „specializate" pentru schimbul prin difuzie, cum sînt branhiile, plămînii și traheele la animale, iar la plante frunzele. La animalele inferioare, de multe ori, toată suprafața tegumentului este adaptată la schimbul prin difuzie. Paraziții interni își iau de obicei hrana pe această cale. Nu trebuie uitat însă că, în toate aceste cazuri, nu este vorba despre o difuzie liberă ci de o difuzie prin membrane. Caracteristicile acestui proces vor fi studiate într-un capitol ulterior (v. *Capit.* 7). Deocamdată menționăm că membranele biologice nu sînt egal permeabile pentru toate substanțele. O astfel de membrană se numește *selectiv permeabilă*. O membrană permeabilă pentru solvent dar impermeabilă pentru solvit se numește *semipermeabilă*. Membranele biologice sînt permeabile nu numai pentru solvent ci și pentru anumite substanțe cu molecula mică. Semipermeabilitatea și selectivitatea membranei stau la baza unui proces special de difuzie pe care îl studiem în continuare.

### 5.3.3. OSMOZA

Dacă două soluții de concentrații diferite sînt despărțite printr-o membrană semipermeabilă are loc un fenomen de difuziune selectivă a moleculelor solventului, fenomen numit *osmoză*. Acest fenomen poate fi pus în evidență cu ajutorul unui dispozitiv numit *osmometru* (fig. 5.7).

Dacă în vasul $A$ se pune o soluție concentrată, iar în vasul $B$ apă (sau o soluție mai puțin concentrată), atunci moleculele solventului din $B$ vor începe să pătrundă prin membrana semipermeabilă ($M$) în vasul $A$. În mod normal, dacă nu este împiedicată de cauze externe, osmoza continuă pînă la egalarea concentrațiilor. În cazul osmometrului însă, datorită solventului care pătrunde în vasul $A$, nivelul lichidului în $A$ se ridică și acesta exercită o presiune care, la un moment dat, o egalează pe aceea a fluxului osmotic.

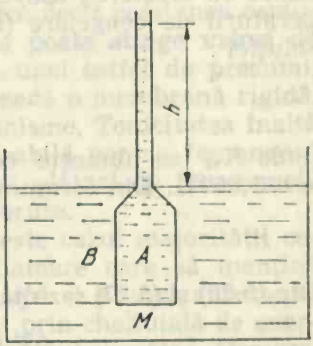


Fig. 5.7. Evidențierea presiunii osmotice cu ajutorul osmometrului (vezi explicația în text).

Prin definiție, se numește *presiune osmotică* acea presiune ce se exercită asupra unei soluții pentru a o menține în echilibru cu solventul, separat de ea printr-o membrană semipermeabilă. În cazul osmometrului, această presiune este apreciată prin intermediul presiunii hidrostatice a coloanei de lichid cu înălțimea $h$ din vasul $A$.

Din punct de vedere cinetico-molecular, ne putem imagina că moleculele solventului care „lovesc" membrana semipermeabilă dinspre $B$, în exces față de $A$, determină o presiune asupra acestei membrane, care este tocmai presiunea osmotică. Considerînd că se lucrează cu soluții nu prea concentrate și făcînd o analogie între moleculele relativ rare ale solvitului (împrăștiate în toată masa solventului) și moleculele unui gaz

rarefiat ce umplu o incintă, putem încerca să aplicăm anumite legi ale gazelor la acest fenomen molecular din soluții. Din ecuația de stare a gazelor perfecte :

$$pV = nRT, \tag{5.23}$$

unde $p$ este presiunea, $V$ = volumul, $n$ = numărul de moli, $R$ = constanta universală a gazelor, iar $T$ = temperatura absolută, rezultă :

$$p = \frac{n}{V} RT = CRT, \tag{5.24}$$

unde $C$ reprezintă concentrația molară a solvitului. De aici rezultă că presiunea osmotică ($p$) variază direct proporțional cu concentrația molară și cu temperatura absolută. Soluția care conține un număr de particule osmotic active egal cu numărul lui Avogadro se numește *soluție osmolară*. În cazul în care substanța dizolvată este formată din molecule mici, nedisociate, soluția osmolară este identică cu cea molară. În cazul în care moleculele sînt disociate, presiunea osmotică poate fi :

$$p = iCRT, \tag{5.25}$$

unde $i = \alpha + 1$, iar $\alpha$ reprezintă *indicele de disociere* (nr. de molecule disociate/nr. de molecule dizolvate). Presiunea osmotică dezvoltată de o soluție osmolară ($C = 1$ OsM, $R = 0{,}082$ litru·atm/mol·°K și $T = 273$ °K) este : $p = 1 \cdot 0{,}082 \cdot 273 = 22{,}4$ atm.

Pentru soluțiile macromoleculare, presiunea osmotică se măsoară în general cu ajutorul osmometrului. Pentru soluțiile adevărate, această presiune se determină de obicei prin așa-numita *metodă crioscopică*. Aceasta se bazează pe fenomenul de coborîre a punctului de îngheț al soluției, odată cu creșterea concentrației. Conform legii lui Raoult, scăderea temperaturii de congelare ($\Delta T$) este proporțională cu concentrația molară a soluției :

$$\Delta T = K_m C, \text{ sau } \frac{\Delta T}{K_m} = C, \tag{5.26}$$

unde $K_m$ se numește *constantă crioscopică molală*. Pentru apă, $K_m = -1{,}86$ °K. Din formula (5.24) poate, de asemenea, rezulta :

$$\frac{p}{RT} = C. \tag{5.27}$$

Din (5.26) și (5.27) rezultă :

$$\Delta T / K_m = p/RT, \text{ sau : } p = \frac{RT \cdot \Delta T}{K_m}. \tag{5.28}$$

La temperatura de 0 °C (273 °K), produsul $RT = 22{,}4$ litru·atm/mol. Fiind vorba de o scădere a temperaturii de îngheț ($\Delta T$ negativ), se poate omite semnul minus pentru $K_m$ și scrie :

$$p = \frac{22{,}4}{1{,}86} \Delta T \cong 12\, \Delta T \text{ (atm)}, \tag{5.29}$$

unde $\Delta T$ apare în valoare absolută. Aceasta este formula practică de calculare a presiunii osmotice prin metoda crioscopică.

**Comportamentul osmotic al celulelor vii.** Două soluții ideale, de molaritate egală, posedă aceeași presiune osmotică ; se spune că sînt *izosmotice*. Dacă membrana este selectiv permeabilă, așa cum este cazul membranelor vii, atunci soluția (sucul celular) va prezenta numai acea parte din presiunea osmotică datorată moleculelor pentru care membrana este impermeabilă. Această fracțiune a presiunii osmotice este cunoscută sub numele de *tonicitate*. În acest fel, două soluții izosmotice despărțite printr-o membrană selectiv permeabilă nu sînt de obicei și izotonice.

Ca exemplu, să considerăm o soluție apoasă de 0,5 M (molar) zaharoză+0,5 M uree, separată de o soluție de 1 M zaharoză printr-o membrană permeabilă la uree dar nu și la zaharoză (fig. 5.8, *A*). Cele două so-

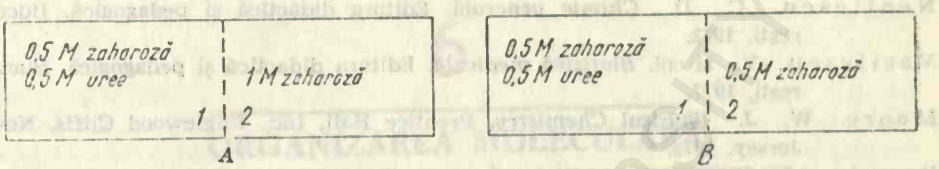



Fig. 5.8. Ilustrarea relației dintre presiunea osmotică și tonicitate : *A* — soluții izosmotice, dar nu și izotonice; *B* — soluții izotonice, dar nu și izosmotice. Membrana care separă compartimentele *1* și *2* este permeabilă la uree dar nu și la zaharoză.

luții sînt evident izosmotice (0,5 M+0,5 M=1 M), dar soluția din vasul 1 are o tonicitate mai mică decît cea din vasul 2 (numai zaharoza contribuie la tonicitate). Se spune că soluția din 1 este hipotonică față de cea din 2. Dacă membrana separă acum un mediu conținînd 0,5 M zaharoză+0,5 M uree de unul conținînd 0,5 M zaharoză (fig. 5.8, *B*), atunci soluția din compartimentul 1 este hiperosmotică față de cea din compartimentul 2, dar ele sînt în schimb izotonice.

Cu toate că tonicitatea celulelor vii este mai mică decît presiunea osmotică (calculată conform concentrațiilor), totuși ea poate atinge valori de 8—12 atm la unele bacterii. Celula poate rezista unei astfel de presiuni, deoarece, pe lîngă membrana plasmatică, mai posedă o membrană rigidă. Acesta este cazul la plante și la unele microorganisme. Tonicitatea înaltă în cazul citoplasmei celulei vegetale este responsabilă pentru fenomenul de turgescență (umflare cu apă) și este implicată, alături de fenomenele de capilaritate și evaporație, în ascensiunea sevei brute.

Celulele care nu posedă un perete rigid, cum este cazul majorității celulelor animale, și-au dezvoltat mecanisme reglatoare care să mențină tonicitatea scăzută prin eliminarea excesului de apă și a unor substanțe. Acesta este în mare parte un proces activ (realizat prin cheltuială de energie metabolică) asupra căruia se va reveni în capitolul următor. Osmoza, ca proces pasiv, are totuși o deosebită importanță și pentru organismul animal. În sistemul circulator al omului, de exemplu, sîngele din capilarele arteriale are o presiune hidrostatică ($p_{ha}$) de aproximativ 32 mm Hg, pe cînd în capilarele venoase această presiune ($p_{hv}$) este de numai 12 mm Hg. Presiunea osmotică determinată de proteinele sanguine plasmatice ($p_{opl}$) este în jur de 28 mm Hg, iar presiunea osmotică (coloidosmotică, cum se mai spune) a lichidului interstițial ($p_{oli}$) este foarte mică, de 1—2 mm Hg. Considerînd pozitivă presiunea îndreptată în sensul trecerii sîngelui din

capilare în țesuturi și negativă în sens invers, rezultă că suma algebrică a presiunilor $P = p_h + p_{oti} - p_{opl}$ va fi pozitivă la nivelul capilarelor arteriale ($p_h = p_{ha}$) și negativă la nivelul celor venoase.

Considerente similare pot explica și procesul de ultrafiltrare la nivelul rinichiului, în formarea urinii și altele.

**BIBLIOGRAFIE**


Neniţescu, C. D. *Chimie generală.* Editura didactică și pedagogică, București, 1972.

Vasilescu, V. și col. *Biofizică medicală.* Editura didactică și pedagogică, București, 1977.

Moore, W. J. *Physical Chemistry.* Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1972.

Davidovits, P. *Physics in Biology and Medicine.* Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1975.

Morris, G. J. *A Biologist's Physical Chemistry.* Addison Wesley Publishing Co., Reading, Massachusetts, 1968.


BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

# 6

# ORGANIZAREA MOLECULARĂ ȘI SUPRAMOLECULARĂ A MATERIEI VII

Elucidarea aprofundată a fenomenelor vieții — obiectivul major al tuturor preocupărilor fundamentale de biofizică — impune cunoașterea cadrului structural în care se desfășoară acestea, mergînd pînă la intimitatea „arhitecturii" moleculare a materiei vii. În studiul proceselor biologice, ca de altfel în toate domeniile de cercetare, alături de abordarea *sintetică* (sau sistemică), ilustrată pe parcursul *Capit. 2 și 3*, de maximă importanță este și abordarea *analitică*. Această modalitate de cercetare se bazează pe descompunerea obiectului de studiu — prin diferite metode experimentale sau, uneori, numai prin raționament — în componenți din ce în ce mai simpli, a căror proprietăți să poată fi stabilite cît mai precis. Pe această cale se urmărește găsirea elementelor constitutive de bază ale obiectului studiat, precum și a modalităților prin care interacțiunile dintre acestea conduc la realizarea proceselor complexe.

Fără a detalia evaluarea epistemologică a celor două tipuri de abordări, subliniem faptul că ambele și-au dovedit din plin importanța în biologie și că ele se completează reciproc. Numai studiind analitic structurile și procesele biologice, dar fără a confunda proprietățile unei entități biologice complexe (de exemplu, un organism) cu acelea ale componenților săi (celule sau biomolecule), se pot evita atît caracterul vag al unei abordări sintetice neaprofundate, cît și reducționismul la care ar putea duce absolutizarea metodei analitice.

Biologia moleculară, în care (alături de biochimie și de unele domenii speciale ca genetica moleculară, imunologia etc.) se încadrează *biofizica moleculară*, este în cea mai mare parte rezultatul abordării analitice în biologie.

Obiectivul biofizicii moleculare constă în caracterizarea cît mai detaliată a componenților moleculari ai materiei vii, astfel ca, din cunoașterea structurii și proprietăților lor fizico-chimice, să poată fi explicate interacțiunile ce duc la fenomene specific biologice. O primă problemă practică este,

deci, aceea a obținerii acestor componenți moleculari într-o stare cît mai apropiată de aceea pe care o au „in vivo".

În figura 6.1 este redată, schematic, succesiunea etapelor prin care se trece de la o entitate biologică — celula — la componenții moleculari din care este alcătuită. Separarea organitelor celulare și chiar a unor biomolecule se face prin ultracentrifugare, centrifugare în gradient de concentrație, cromatografie și electroforeză. Fiecare din aceste *tehnici preparative* comportă diferite variante. Astfel, de exemplu, cromatografia poate fi mono- sau bidimensională, pe hîrtie sau pe rășini schimbătoare de ioni, în gaz etc. După ce materialul biologic a fost prelucrat printr-un ansamblu de tehnici preparative, se obțin organite celulare sau chiar componenți macromoleculari care urmează a fi studiați.

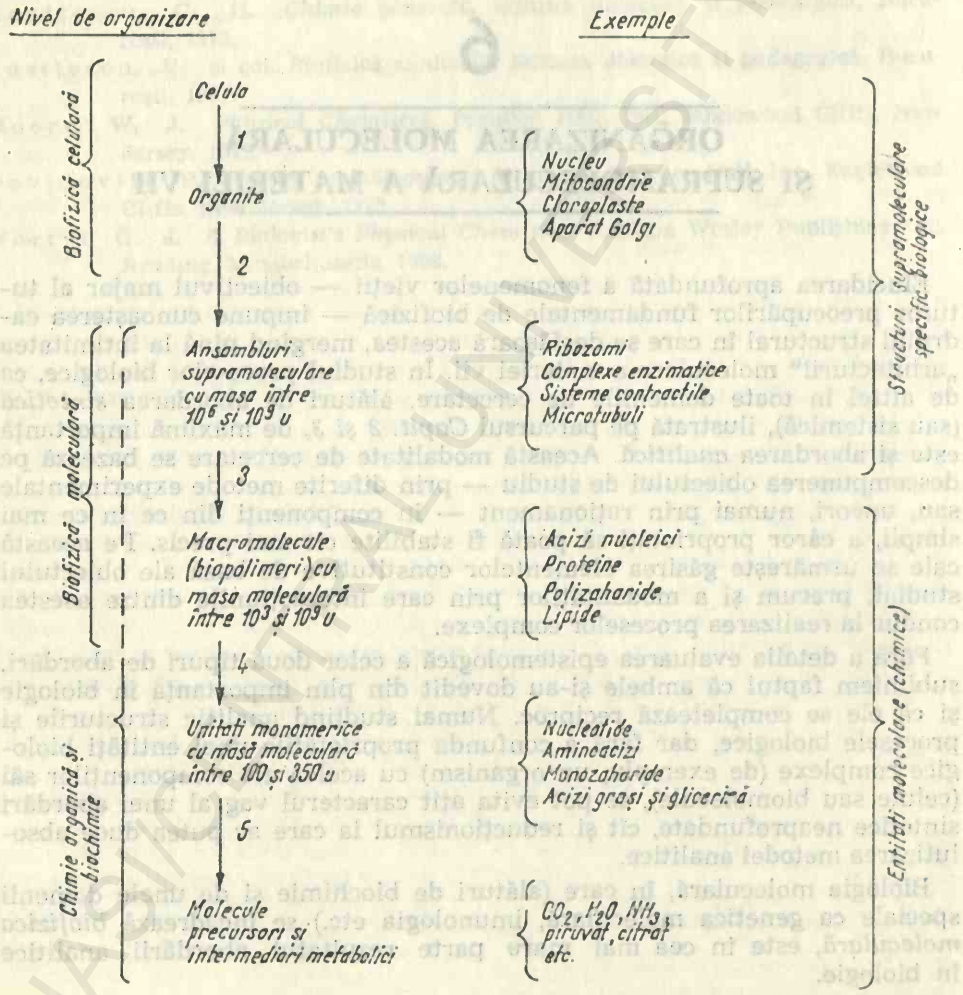



Fig. 6.1. Analiza (descompunerea) unui obiect biologic (celula) în componenți din ce în ce mai simpli. Trecerile *1* și *2* implică desfacerea unor legături intermoleculare mai slabe față de trecerile *4* și *5*, care impun ruperea unor legături chimice. Trecerea *3* poate implica ambele tipuri de transformări.

Un alt grup important de metode de lucru în biofizică sînt, deci, *tehnicile de studiere a ultrastructurii*. Este vorba în primul rînd de cercetarea ultrastructurii celulare, adică a alcătuirii organitelor celulare.

Aparatele de microscopie optică, adică microscopul obişnuit, ultramicroscopul, microscopul cu contrast de fază şi cel polarizant au fost şi sînt de mare utilitate în cercetarea citologică, însă posibilităţile lor de mărire şi de rezoluţie sînt mult sub cerinţele impuse de studiul structurii profunde a componenţilor celulari. Microscopia electronică a dus la o adevărată avalanşă de descoperiri în acest domeniu. Ajungînd pînă la puteri de mărire de sute de mii de ori, microscopul electronic a permis vizualizarea nu numai a organitelor celulare, ci şi a unor agregate şi lanţuri de biopolimeri. În cazul organitelor celulare, în ultimul timp se bucură de o atenţie deosebită membranele care sînt omniprezente în sistemele biologice şi cu care sînt asociate procese de cea mai mare importanţă pentru organism (v. *Capit. 7*).

Datorită faptului că proteinele şi acizii nucleici — principalii componenţi ai celulelor vii — absorb cu precădere lumina cu anumite lungimi de undă, una din tehnicile importante utilizate în majoritatea cercetărilor de biofizică moleculară este spectrofotometria. O variantă perfecţionată a spectrofotometriei este microspectrofotometria care, adaptată la cercetarea biologică (citospectrofotometria), a permis urmărirea absorbţiei spectrale în diferite puncte ale unei celule.

Pentru elucidarea structurii spaţiale a biopolimerilor, de cea mai mare utilitate s-au dovedit a fi difracţia de raze X (tehnică larg folosită în cristalografie) şi, mai recent, spectrometria de rezonanţă nucleară. Pe baza datelor furnizate de difracţia de raze X s-a descoperit dispunerea spaţială a atomilor în acizii nucleici şi în unele proteine de mare importanţă ca, de exemplu, hemoglobina.

## 6.1. FORŢE INTERATOMICE ŞI INTERMOLECULARE

Pentru înţelegerea formării structurilor biologice din componenţii lor moleculari este necesară cunoaşterea diferitelor tipuri de interacţiuni elementare ce se manifestă între acestea. Rezultatul acestor interacţiuni este fie formarea unor legături chimice, deci a unor noi componenţi moleculari, fie dispunerea spaţială a acestora în conformitate cu forţele intermoleculare care se manifestă între ei.

Forţele interatomice şi intermoleculare derivă, în ultimă instanţă, din faptul că toţi atomii conţin sarcini electrice de semne contrare : nucleul încărcat electric pozitiv datorită protonilor şi învelişul electronic încărcat negativ. Aceste forţe sînt, deci, de natură electrostatică.

Baza de interpretare a tuturor interacţiunilor electrostatice o constituie *legea lui Coulomb* (6.1), care exprimă forţa ($F$) cu care interacţionează două particule avînd sarcinile electrice $q_1$ şi $q_2$, aflate la distanţa $x$, într-un mediu cu constanta dieletrică $\varepsilon$ :

$$F = \frac{1}{4\pi\varepsilon} \cdot \frac{q_1 q_2}{x^2} . \qquad (6.1)$$

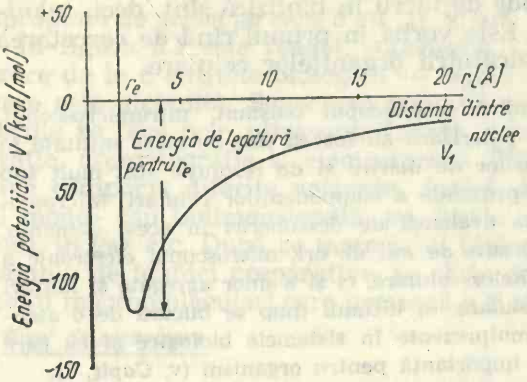



Fig. 6.2. Variația energiei potențiale ($V$) dintre doi atomi, în funcție de distanța dintre ei. Cînd distanța ($r$) dintre atomi este foarte mare, interacțiunea este practic inexistentă și atomii au o energie potențială constantă ($V_1$), corespunzătoare energiei electronilor respectivi. Pe măsură ce distanța scade, forțele de atracție dintre atomi cresc, în timp ce energia potențială scade. Dacă distanța se micșorează în continuare, forțele de atracție încep să diminueze. La o anumită distanță interatomică ($r_e$) forțele de atracție se anulează și, din forțe „atractive", devin forțe „repulsive". Acestea din urmă devin preponderente, iar valoarea energiei potențiale crește brusc. Configurația corespunzătoare lui $r=r_e$, în care forțele intermoleculare se anulează iar energia potențială este minimă, reprezintă starea stabilă, cînd se formează o moleculă. Exemplul a fost luat pentru legătura ionică dintre Na+ și Cl− (după Snell și col.).

Forțele de respingere (dintre sarcini de același semn) sînt pozitive, iar cele de atracție (dintre sarcini de semne contrare) au semn negativ. În cazul atomilor, în funcție de distanța dintre ei, pot predomina fie forțele de atracție, fie cele de respingere (fig. 6.2).

Deoarece forța care se dezvoltă între doi ioni nu poate fi determinată practic, este mai avantajos să ne referim la energia potențială a ionilor. Această energie va fi echivalentă cu lucrul $W$ necesar pentru deplasarea unui ion de la infinit pînă la o distanță oarecare $r$. Lucrul elementar $dW$, efectuat atunci cînd ionul parcurge o distanță infinitezimală $-dr$, este produsul dintre forță și distanță. Semnul negativ din membrul drept al ecuației (6.2) exprimă scăderea distanței dintre particule, cînd ele se apropie :

$$dW = F \cdot (-dr) = -\frac{q_1 q_2}{\varepsilon r^2} \cdot dr \quad (6.2)$$

Lucrul integral ($W$) efectuat pentru aducerea particulei de la poziția $r \to \infty$ la poziția $r = r_1$ va depinde de suma tuturor vectorilor lucrurilor elementare $dW$. Însumînd aceste valori prin integrarea ambilor termeni ai ecuației (6.2) pentru limitele de la $\infty$ la $r_1$, vom obține :

$$W = \int_{\infty}^{r_1} dW = \int_{\infty}^{r_1} -\frac{q_1 q_2}{\varepsilon r^2} dr = -\frac{q_1 q_2}{\varepsilon} \int_{\infty}^{r_1} \frac{dr}{r^2} =$$

$$= -\frac{q_1 q_2}{\varepsilon} \left[ -\frac{1}{r} \right]_{\infty}^{r_1} = \frac{q_1 q_2}{\varepsilon} \left( \frac{1}{r_1} - \frac{1}{\infty} \right); \quad \boxed{W = \frac{q_1 q_2}{\varepsilon r_1}} \quad (6.3)$$

Deoarece ecuația (6.3) este valabilă pentru orice valoare a lui $r$, se poate renunța la indice. În aceste condiții, energia de legătură ($E$) va fi reprezentată prin energia necesară separării a doi ioni (sau, în general, a unei legături chimice), adică ducerii lor la distanța $r \to \infty$. Deci $E = -W$.

Ordinul de mărime al dimensiunilor moleculare este, ca și în cazul atomilor, tot de $10^{-10}$ m, cu excepția macromoleculelor care, conținînd un număr de peste $10^4$ atomi, pot atinge dimensiuni pînă la $10^{-7}$—$10^{-6}$ m.

Formarea moleculelor poate fi explicată prin mai multe teorii, dintre care vom prezenta doar două :

*Teoria spinului* (G. Lewis). Fiecare electron de pe un nivel cuantic poate fi echivalat cu un magnet a cărui polaritate poate fi stabilită prin „regula burghiului". Totodată, pe nivelul cuantic corespunzător, electronul execută și o mișcare de precesie, generînd momentul cinetic de spin ($\mu_s$). Pentru electronii din nivelele cuantice inferioare, spinii se compensează reciproc, doi cîte doi, conform regulii lui Hund și principiului interdicției lui Pauli. În cazul electronilor de pe nivelele superioare spinii nu se mai pot compensa, determinînd apariția forțelor interatomice. Dacă pentru astfel de electroni spinii sînt orientați paralel, polii magnetici apropiați sînt de același sens și se dezvoltă forțe repulsive. Legătura dintre atomi se realizează numai atunci cînd electronii straturilor superioare au spinii orientați antiparalel. Rezultă că forțele atractive se datorează interacțiunii dintre cîmpurile magnetice create de electronii straturilor superficiale, numiți și „electroni de valență", ei determinînd formele de legături chimice cunoscute.

*Teoria formării unei configurații stabile pe ultimul nivel cuantic.* Elementele care au o structură de doi sau opt electroni pe ultimul nivel cuantic rămîn în stare atomică, deoarece sistemul este solidar, se găsește într-o stare de echilibru stabil, inert, sistemul neputînd găsi o altă formă de echilibru mai stabil și nemanifestînd nici o tendință de a trece într-o altă regrupare. Atomii celorlalte elemente, care au un număr mai mic de opt electroni pe nivelul cuantic periferic, nu au stabilitate și au tendința de a-și modifica prin combinare chimică configurația electronică, în sensul unei cît mai mari asemănări cu aceea a gazului inert cu structura cea mai apropiată. Datorită acestei tendințe, astfel de atomi sînt activi, intră ușor în reacție pentru a se asocia cu alți atomi și a forma complexe mai stabile — molecule. Toate reacțiile chimice se reduc în realitate la deplasări și regrupări de electroni periferici, astfel încît fenomenele chimice ar putea fi încadrate în categoria fenomenelor fizice.

### 6.1.1. STĂRI ENERGETICE ALE MOLECULELOR

Spectrul energetic molecular este mai complicat decît cel atomic. Prezența în moleculă a cel puțin două nuclee face ca asupra electronilor să se exercite un cîmp fără simetrie sferică, de aceea mișcarea electronilor va depinde de mișcarea nucleelor. Datorită multiplelor posibilități de mișcare a moleculei, aceasta va prezenta o energie totală ($E_{tot}$) compusă din următoarele componente : $E_t$=energia de translație a moleculei, $E_r$ =energia de rotație, $E_v$ =energia de vibrație a nucleelor atomilor moleculei în jurul poziției lor de echilibru și $E_e$ =energia păturii electronice a moleculei, adică :

$$E_{tot}=E_t+E_r+E_v+E_e. \tag{6.4}$$

Dintre aceste componente, $E_t$ nu se cuantifică, deoarece molecula în mișcarea de translație poate trece continuu prin toate stările energetice. Celelalte trei tipuri de energii pot fi cuantificate, deoarece fiecare electron poate avea numai anumite stări staționare, iar trecerea de la o stare la alta dă naștere spectrelor moleculare. Ca și în cazul atomului, și în cazul moleculei sînt valabile noțiunile de : *spectru energetic, stare fundamentală* (relaxată) și *stare excitată.*

Din multitudinea de legături interatomice, vom prezenta pe acelea pe care le întîlnim în mod normal și în structurile biologice. Structura moleculelor este determinată de distanța dintre atomi, de orientarea spațială a legăturilor și de gradul de rotație în jurul unei anumite direcții.

### 6.1.2. LEGĂTURA LONDON — VAN DER WAALS

Formarea moleculelor prin *legătură ionică*, sau prin cea *covalentă*, se bazează pe existența unor forțe de interacțiune a căror energie de legătură este de aproximativ 100 kcal/mol (tab. 6.1). Ambele tipuri de legături au mai fost denumite și *legături primare*.

*Tabelul 6.1*

**Caracteristicile principalelor legături din moleculele biologice**

| Legătură | Lungimea legăturii (Å) | Energia de legătură (kcal/mol) |
|---|---|---|
| C—C | 1,54 | 83,1 |
| C=C | 1,33 | 147 |
| C≡C | 1,21 | 194 |
| N—N | 1,45 | 38,4 |
| N=N | 1,24 | 100 |
| N≡N | 1,10 | 226 |
| C—N | 1,47 | 69,7 |
| C=N | 1,26 | 147 |
| C≡N | 1,15 | 213 |
| C—O | 1,43 | 84,0 |
| C=O | 1,14 | 171 (aldo) |
| | | 174 (ceto) |
| C—S | 1,82 | 62,0 |
| C=S | | 114 |
| C—Cl | 1,76 | 78,5 |
| O—H | 0,96 | 110,6 |
| N—H | 1,01 | 93,4 |
| S—H | 1,35 | 81,1 |
| C—H | 1,09 | 98,8 |

În afara acestora, există și o multitudine de interacțiuni secundare, specifice macromoleculelor, deci și biopolimerilor, interacțiuni care, deși din punct de vedere energetic sînt inferioare, joacă un rol important în menținerea structurilor biologice și dinamicii acestora. Aceste forțe secundare se bazează adesea pe interacțiunile electrostatice dintre ioni și dipoli, sau dintre dipoli.

Un dipol electric este format din două sarcini electrice de mărime egală, dar de semn contrar $+q$ și $-q$, situate la distanța $d$. Proprietatea caracteristică a dipolului este momentul său $\mu$, care poate fi definit prin ecuația :

$$\mu = q \cdot d \qquad (6.5)$$

Energia potențială de interacțiune $V$ dintre un dipol și un ion, aflați la distanța $r$, se poate calcula prin ecuația :

$$V = \frac{q_1 q_2}{\varepsilon r} . \qquad (6.6)$$

În figura 6.3 este redată legătura pentru o sarcină pozitivă $q_1$ situată la distanța $r$ de un dipol cu un moment :

$$\mu = q_2 \cdot d \qquad (6.7)$$

Fig. 6.3. Interacție de tip ion-dipol.

Prin ecuația (6.6) se poate calcula energia potențială totală :

$$V = \frac{q_1 \cdot (-q_2)}{\varepsilon r} + \frac{(q_1) \cdot (q_2)}{\varepsilon (r+d)} . \qquad (6.8)$$

După rezolvarea sumei, se obține prin înlocuirea $\mu = q_2 \cdot d$ :

$$V = \frac{q_1 \cdot q_2}{\varepsilon} \left( \frac{1}{r+d} - \frac{1}{r} \right) = \frac{q_1 \cdot q_2}{\varepsilon} \left[ \frac{r-(r+d)}{r(r+d)} \right] = -\frac{q_1 \cdot q_2 \cdot d}{\varepsilon r (r+d)} = -\frac{q_1 \mu}{\varepsilon r (r+d)} . \qquad (6.9)$$

Dacă $d$ este foarte mic în comparație cu $r$, atunci $r+d \approx r$ și vom obține :

$$V = \frac{q_1 \cdot \mu}{\varepsilon r^2} \quad \text{pentru } d \ll r. \qquad (6.10)$$

Ecuația (6.10) este aplicabilă numai cînd axa dipolului se situează în direcția ionului. Dacă între axa dipolului și linia de legătură ion-dipol se formează un unghi $\vartheta$ (fig. 6.4), ecuația devine :

$$V = -\frac{q_1 \cdot \mu}{\varepsilon r^2} \cdot \cos \vartheta . \qquad (6.11)$$

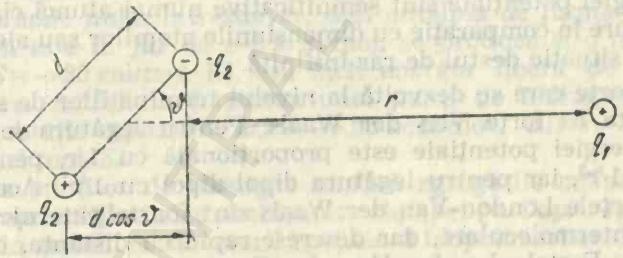



Fig. 6.4. Interacția dintre un ion și un dipol, atunci cînd axa dipolului formează un unghi $\nu$ cu linia de legătură a ionului (după S n e l l și col.).

Pentru energia de interacțiune dintre doi dipoli $\mu_1$ și $\mu_2$, a căror axă se află în direcția liniei de legătură, se obține :

$$V = -\frac{2\mu_1 \cdot \mu_2}{\varepsilon r^3} , \text{ pentru } d \ll r. \qquad (6.12)$$

Configurația electronică în toți atomii și în toate moleculele este instabilă, „norul electronic" putîndu-se deforma. Posibilitatea de deformare este determinată de gradul de polarizare ($\alpha$). Atunci cînd un ion pozitiv se apropie de un atom sau o moleculă neutră, electronii vor fi atrași iar

nucleul respins. Prin aceasta apare o separare a sarcinilor pozitive de cele negative în atom sau în moleculă și, în final, se formează un *dipol indus*. Forțele care determină apariția acestei asimetrii într-o moleculă și transformarea ei în dipol au fost denumite *forțe de dispersie London* (fig. 6.5).

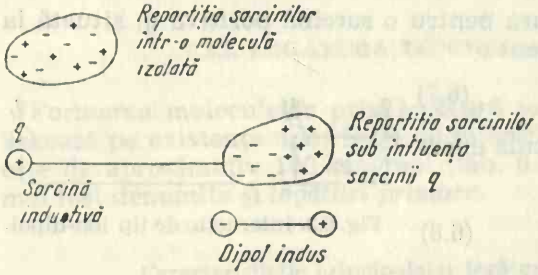



Fig. 6.5. Formarea unui dipol indus.

Este evident că un ion negativ va crea prin același mecanism un dipol indus, însă cu o aranjare inversă a sarcinilor.

Mărimea dipolmomentului indus depinde de sarcina $q$ și de distanța $r$ a ionului inductiv, precum și de gradul de polarizare $\alpha$ al atomului, respectiv al moleculei :

$$\mu_{ind} = \frac{\alpha \cdot q}{\varepsilon \cdot r^2} \cdot \qquad (6.13)$$

Energia potențială de interacțiune dintre un ion și o moleculă polarizabilă va fi :

$$V = -\frac{\alpha \cdot q^2}{\varepsilon^2 \cdot r^4} \cdot \qquad (6.14)$$

Prin același mecanism, un dipol permanent poate crea un dipol indus într-o moleculă polarizabilă. Energia de interacțiune dintre un dipol permanent și un dipol indus va fi :

$$V = -\frac{2\alpha \cdot \mu^2}{\varepsilon^2 \cdot r^6} \cdot \qquad (6.15)$$

Așa cum reiese din ecuațiile (6.10) și (6.12), corelate cu (6.14) și (6.15), valorile energiei potențiale sînt semnificative numai atunci cînd distanța $r$ este foarte mare în comparație cu dimensiunile atomilor sau ale moleculelor participante, situație destul de rar întîlnită.

Astfel de forțe care se dezvoltă la nivelul terminațiilor de semn contrar sînt cunoscute ca forțe Van der Waals. Pentru legătura ion-ion, panta graficului energiei potențiale este proporțională cu $1/r$, pentru legătura ion-dipol cu $1/r^3$, iar pentru legătura dipol-dipol cu $1/r^7$. Acest lucru dovedește că forțele London-Van der Waals sînt foarte puternice la distanțe foarte mici intermoleculare, dar descresc rapid cu distanța, devenind nesemnificative. Forțele London-Van der Waals sînt întîlnite în soluțiile foarte concentrate și, de aceea, joacă un rol important în cadrul proceselor biochimice din sistemele vii, în mod deosebit în structurile tranzitorii ale moleculelor din complexele celulare, cum ar fi : în sinteza proteinelor în ribozom, în influența reglatoare a ADN, în acțiunea enzimatico-catalitică etc.

### 6.1.3. LEGĂTURA PRIN PUNTE DE HIDROGEN

Este o formă specială a legăturii dipol-dipol, exercitată prin forțele electrostatice care iau naștere între gruparea —OH și perechea de electroni liberi ai oxigenului. Acest tip de legătură se întîlnește și în cazul

asocierii printr-o punte dublă între un atom și o grupare >NH. Dimensiunile punților de hidrogen pot avea valori care merg pînă la 0,28 nm. Energia de legătură a unei punți de hidrogen reprezintă numai 1/10 din valoarea legăturii covalente, motiv pentru care acest tip de legătură este ușor de disociat, cu un consum energetic redus, iar la formarea unei noi legături se eliberează o cantitate mică de energie liberă (fig. 6.6).

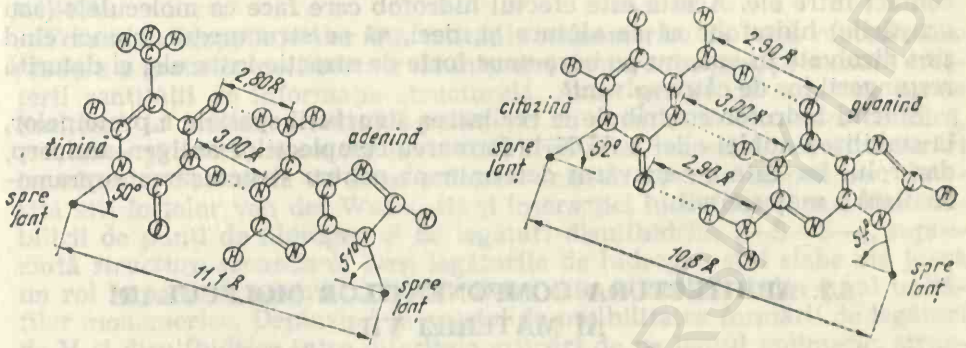



Fig. 6.6. Formarea punților de hidrogen între timină și adenină și între citozină și guanină (după S n e l l și col.).

Între grupările laterale ale moleculelor avînd o structură primară formată prin legături covalente se pot forma punți de hidrogen care determină o reducere a posibilităților de rotație în jurul legăturilor covalente. Astfel pot lua naștere alte structuri, cum ar fi structurile secundare ale *biopolimerilor.*

Deși punțile de hidrogen au un rol esențial în determinarea structurii spațiale a biopolimerilor, contribuția lor la stabilitatea în soluție a acestora este practic nulă. Într-adevăr, deși entalpia de formare a unei punți de hidrogen este în jur de —5 kcal/mol, se produce și o micșorare a entropiei ($\Delta S \approx -20$ cal/mol·K), așa încît energia liberă de formare este, practic, zero. Astfel, la formarea unei punți de hidrogen în proteinele aflate în soluție apoasă: $\Delta G = -0{,}55$ kcal/mol, $\Delta H = -7{,}7$ kcal/mol și $\Delta S = -24$ cal/mol·K.

Formarea punților de hidrogen explică agregările moleculare care determină proprietățile fizice neobișnuite ale apei (v. *Capit. 4*) și joacă un rol important în stabilirea structurii spațiale a biopolimerilor. În același timp, punțile de H sînt esențiale pentru stabilirea unor legături specifice între macromolecule sau între o micromoleculă și un anumit loc reactiv de pe o macromoleculă. De exemplu, formarea dublei elice între două lanțuri complementare de ADN, sau formarea din nucleotizi a unui lanț de ARN pe „matrița" unui lanț de ADN se bazează pe constituirea legăturilor de H specifice între bazele azotate.

### 6.1.4. INTERACȚIUNEA HIDROFOBĂ

Prin dizolvare, orice moleculă face ca moleculele de apă aflate în contact cu ea să nu mai poată stabili același număr de punți de H între ele, eventual stabilindu-se punți de hidrogen între apă și molecula dizolvată.

Dacă molecula dizolvată are o porțiune hidrofobă, așa cum sînt catenele hidrocarburice din acizii grași, moleculele de apă în contact cu această porțiune vor avea mai puține legături de H, deci energia potențială a sistemului va fi mai mare. Tendința de atingere a energiei potențiale minime face ca suprafețele de contact cu apa ale grupărilor hidrofobe să fie cît mai mici, deci ca aceste grupări hidrofobe să fie în cît mai mare măsură în contact între ele. Acesta este efectul hidrofob care face ca moleculele (sau grupările) hidrofobe să se alăture și, deci, să se structureze, atunci cînd sînt dizolvate în apă, nu pe baza unor forțe de atracție între ele, ci datorită respingerii lor de către solvent.

Efectul hidrofob contribuie la realizarea structurii spațiale a proteinelor, la stabilirea dublei elici a ADN, la formarea complecșilor antigen-anticorp, dar rolul lor este cu adevărat determinant pentru structurarea supramoleculară a materiei vii.

## 6.2. ARHITECTURA COMPONENȚILOR MOLECULARI AI MATERIEI VII

Dacă se analizează natura moleculelor din care sînt compuse celulele oricărui organism, se găsește o mare proporție de *micromolecule* (în primul rînd apă — vezi *4.1*) și de ioni anorganici. Referitor însă la componenții organici, care sînt în fond cei specifici materiei vii, aceștia se prezintă majoritar, sub formă de molecule uriașe — *macromolecule* — cu masa cuprinsă între $10^3$ și $10^9$ u. Fără a intra în detalierea structurii chimice a acestor componenți (ceea ce face obiectul altor discipline), studierea organizării materiei vii impune ca etapă esențială cunoașterea arhitecturii componenților ei macromoleculari.

O macromoleculă (sau *polimer*) este un ansamblu de atomi legați covalent, constituit dintr-un număr mare de molecule mici asemănătoare între ele (*monomeri*) care reprezintă unitățile de bază din a căror legare chimică rezultă macromolecula. Dacă este un singur tip de unitate monomerică (de exemplu „A"), polimerul rezultat este un *homopolimer* (în acest caz, poli —A : A—A—A— . . . —A—A), iar dacă monomerii sînt de mai multe tipuri (A, C, G), rezultă un *heteropolimer* (A—G—A—A—C— . . . etc.). Este evident faptul că, pentru a se lega într-un lanț polimeric, unitățile monomerice trebuie să posede cel puțin două grupări funcționale care să poată reacționa cu formare de legături.

Lanțurile polimerice pot avea conformații cu diferite grade de ordonare (deci cu entropii diferite), variind între structură rigidă, așa cum este în faza cristalină și „ghem haotic", în care monomerii au libertate de rotație reciprocă (fig. 6.7). Conformația depinde atît de natura monomerilor, cît și de parametrii ambianți : temperatură, natura solventului, „tăria ionică", *p*H etc.

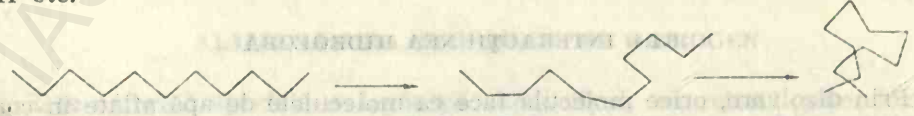


Fig. 6.7. Reprezentarea schematică a trecerii unui polimer din conformație rigidă în „ghem haotic".

Marea majoritate a biopolimerilor sînt heteropolimeri constituiți din monomeri diferiți, dar evident aparținînd aceleiași clase de substanțe. Principalele tipuri de unități monomerice sînt aminoacizii, nucleotidele și monozaharidele, cărora le corespund, respectiv, polimerii : polipeptide (conținute în proteine), polinucleotide (ADN și ARN) și polizaharide. La acestea se mai adaugă și unii polimeri hidrocarburici, cum ar fi cauciucul natural.

Formarea biopolimerilor din unitățile monomerice de bază reprezintă o scădere a gradelor de libertate de mișcare, deci a entropiei, pe măsura creșterii cantității de informație structurală. Acest proces de ordonare nu se limitează la formarea lanțului polimeric cu o anumită structură chimică, *structura primară*, ci continuă cu stabilirea unei succesiuni de structurări ierarhizate. Formarea de zone ordonate într-un lanț de biopolimer, datorită atît forțelor van der Waals, cît și interacției hidrofobe și mai ales stabilirii de punți de hidrogen și de legături disulfhidrice (—S—S—), reprezintă *structura secundară*. Deși legăturile de hidrogen sînt slabe ele joacă un rol important, pentru că numărul lor este de același ordin cu al unităților monomerice. Depinzînd în special de posibilitatea formării de legături de H și disulfhidrice între diferitele grupări de pe lanțul polimeric, structura secundară este, deci, determinată de atomii componenți ai lanțului, adică de structura primară.

### 6.2.1. STRUCTURA PROTEINELOR ȘI ACIZILOR NUCLEICI

Această problemă a fost clarificată de către P a u l i n g și C o r e y. După cum se cunoaște, proteinele reprezintă catene lungi de molecule formate prin polimerizarea aminoacizilor (fig. 6.8). În lungul legăturilor peptidice apare o mezomerie, în care o parte a legăturii duble se repartizează orbitalului atomului de oxigen, iar o parte grupării >NH (fig. 6.9). Apare un plan, determinat de atomii care au dat mezomeria.

Analizînd structura spațială a acestor molecule gigant, putem desprinde următoarele aspecte generale :

— legăturile la atomul de carbon nr. 1 se află toate într-un plan, unghiul de legătură fiind în jur de 120° ;

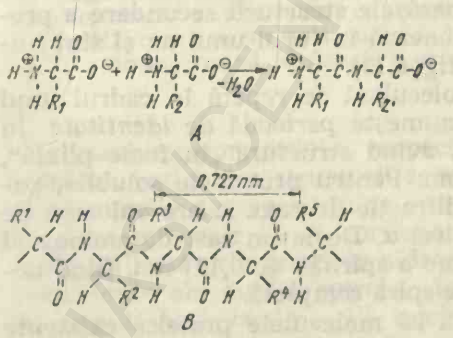



Fig. 6.8. Legături peptidice între moleculele aminoacizilor : *A* — formarea unui dipeptid ; *B* — lanț polipeptidic.

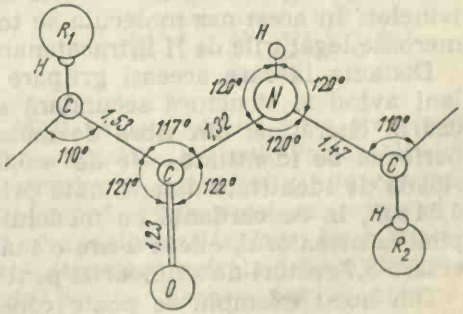



Fig. 6.9. Lungimile legăturilor interatomice și unghiurile dintre ele, în cazul unui lanț polipeptidic.

— legătura dintre atomul 1 de carbon și atomul de azot învecinat se află, conform legilor mezomeriei, într-o posibilitate de rotire liberă ;

— legătura dintre atomul de azot și atomul de carbon 2 nu este restrînsă de posibilitățile de rotire, deci legătura dintre atomii de carbon 2 și 3 poate fi repartizată în orice direcție ;

— în lungul lanțului polipeptidic se găsesc multe grupări —NH și —CO între care se pot forma legături prin punți de H. Din acest motiv, molecula va căpăta structura care să prezinte maximum de punți de H posibile, ceea ce înseamnă că a apărut conformația cu energie internă minimă.

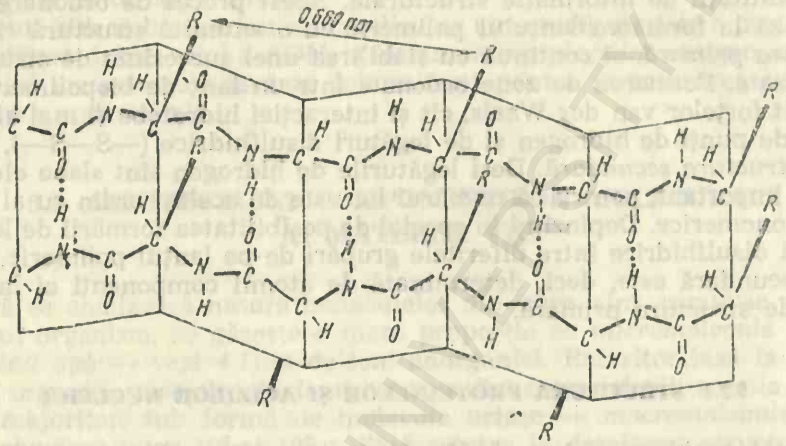



Fig. 6.10. Structura „în foaie pliată" a moleculei de cheratină.

Catenele polipeptidice din proteine pot avea, în principal, două tipuri de structuri secundare : *a*) unele în care legăturile de H se formează între catene diferite ; *b*) alte structuri în care legăturile de H sînt intracatenare.

Datorită posibilității de rotire liberă de la atomul 2 de carbon, planul legăturii peptidice (condițiile *1* și *2*) se poate frînge la acest nivel. Astfel apare structura numită *„în foaie pliată"*, avînd legături de H intercatenare (fig. 6.10). Acest tip de structură este, de exemplu, în cazul cheratinei.

O altă structură ce apare datorită numărului mare de punți de H este *elicea* $\alpha$ (alfa), una dintre formele de bază ale structurii secundare a proteinelor. În acest caz molecula se torsionează în jurul unui ax și sînt numeroase legăturile de H intracatenare (fig. 6.11).

Distanța la care aceeași grupare moleculară se repetă în cadrul unui lanț avînd și structură secundară se numește *perioadă de identitate*. În cadrul cheratinei din fibra de mătase, avînd structură „în foaie pliată", perioada de identitate este de $\approx$0,66 nm. Pentru proteinele solubile, perioada de identitate determinată prin difracție de raxe X are valoarea de 0,54 nm, în concordanță cu modelul elicei $\alpha$. De la un rest de aminoacid pînă la următorul, elicea $\alpha$ are o înălțime a spiralei de 0,147 nm, fiind necesare 3,7 resturi de aminoacizi pentru o spiră completă.

Din acest exemplu se poate constata că moleculele proteice existente în celulele vii pot fi studiate în funcție de direcțiile de legătură dintre atomii componenți și, prin aceasta, pot fi determinate precis structurile subcelulare. Alfa-helixul este întîlnit ca structură de bază în multe mole-

cule proteice, care sînt formate prin polimerizarea unor aminoacizi foarte diferiți.

Structura secundară a proteinelor se mai poate prezenta și sub așa-numita *formă* β (beta), reprezentată printr-o succesiune în lanț lung de aminoacizi.

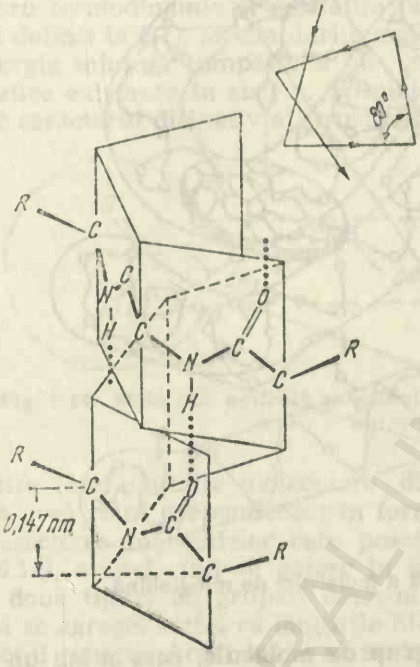



Fig. 6.11. Aspectul și reprezentarea structurii secundare a proteinei de tip alfa-helix. Grupele C=O învecinate formează o torsionare cu grupele —NH care aparțin unei punți de hidrogen vecină, torsionată și ea.

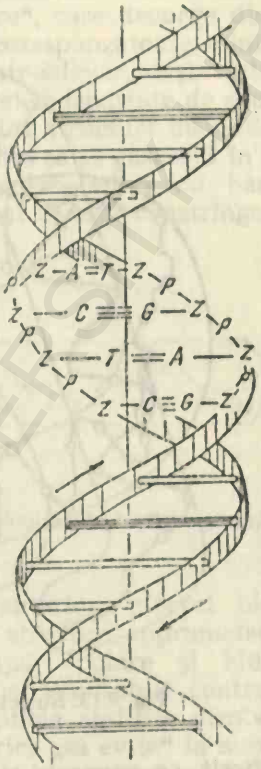



Fig. 6.12. Reprezentarea schematică a structuri. moleculei de ADN *(modelul Watson-Crick)*:

Z — dezoxiriboză; P — fosfat; A — adenină; T — timină; C — citozină; G — guanină.

În cazul acizilor nucleici, respectiv ADN, moleculele au tot o *structură spiralată*, variantă a structurii secundare, numită „helixul Watson-Crick" (după numele descoperitorilor acestei structuri). Acest helix este compus din două molecule lungi, torsionate împreună. Și în acest caz, structura este stabilizată prin punți de hidrogen, care realizează legături între bazele componente ale dublei spirale. Această structură spiralată spre dreapta are cîte 34 Å și conține 10 nucleotide pentru fiecare pas al spiralei (fig. 6.12).

Un alt tip de structură proteică a fost descrisă pentru molecula de mioglobină; este vorba de *structura terțiară* (fig. 6.13). Pentru stabilizarea

structurii terțiare sînt întîlnite tot punțile de hidrogen, alături de punțile —S—S— care apar în urma interacțiilor dintre grupările sulfhidril ale acizilor aminici. Structura terțiară a proteinelor cu rol de enzime este determinantă pentru funcțiile specifice ale acestora în cazul metabolismului.

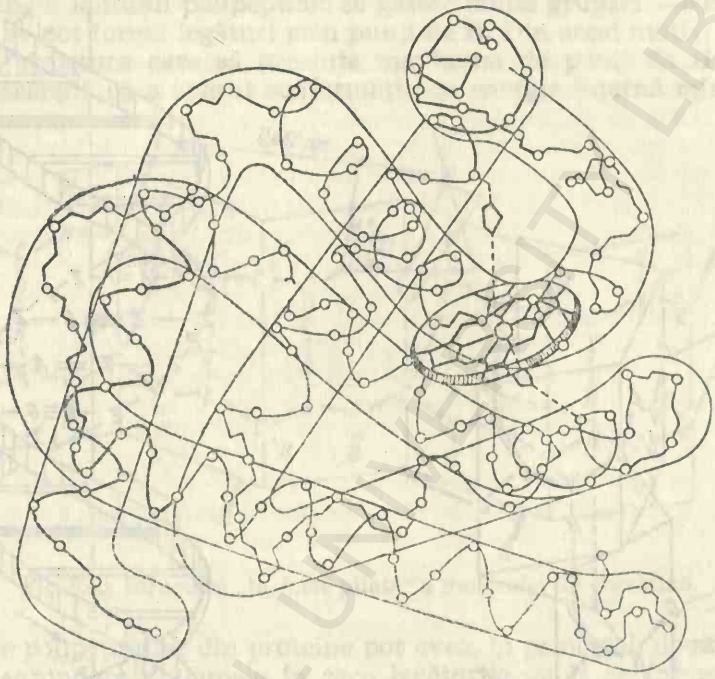


Fig. 6.13. Structura terțiară a moleculei de mioglobină.

În sfîrșit, se cunoaște și un alt grup de molecule, care ating un nivel structural de organizare denumit *structură cuaternară*. Acest tip de structură joacă un rol important în organizarea moleculară a mușchilor și tendoanelor, constituind ultima fază tranzitorie între sistemele de biopolimeri și structurile supramoleculare, subcelulare.

## 6.3. ORGANIZAREA SUPRAMOLECULARĂ A MATERIEI VII

Problema generală a organizării materiei vii (din orice organism) include biosinteza multitudinii de componenți moleculari și *asamblarea* acestor molecule în structuri ordonate formînd organitele, celulele și, în ultimă instanță, întreg organismul. Ambele aspecte sînt de importanță fundamentală, dar biosinteza fiind o problemă predominant biochimică nu ne vom referi în continuare decît la formarea de structuri organizate din componenți moleculari existenți. Această problemă a „construcției" materiei vii din „cărămizile" și „accesoriile" macromoleculare se referă în mod evi-

dent nu numai la procesele morfogenetice dintr-un organism actual, ci și la etapa de început a apariției vieții : trecerea de la evoluția chimică a materiei, la primele stadii ale biogenezei.

Achiziția fundamentală pentru rezolvarea acestei probleme este înțelegerea faptului că asamblarea moleculelor biopolimerice în structuri de nivel superior este un proces de „autoasamblare", care decurge din tendința fiecărei molecule de a ajunge în poziția corespunzătoare minimului de energie liberă, posibil în condițiile date. Într-adevăr, deși viața este un ansamblu de procese care, în mod evident, sînt îndepărtate de starea de echilibru termodinamic și entitățile biologice sînt structuri disipative (în sensul definit la 2.7), ansamblurile moleculare tind să se găsească în starea cu energia minimă compatibilă cu „constrîngerile", adică cu barierele energetice existente în sistem. Tocmai ansamblul acestor constrîngeri definește caracterul disipativ al structurii.

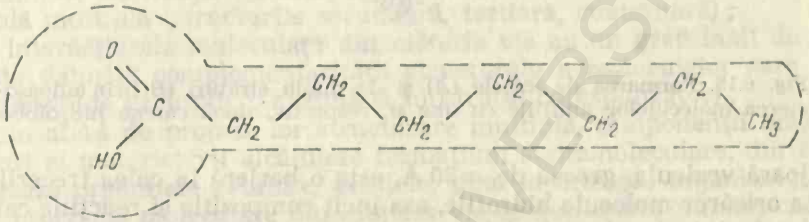



Fig. 6.14. Moleculă amfifilă posedînd o zonă polară, hidrofilă și una hidrofobă.

Dintre interacțiunile moleculare discutate anterior, efectul hidrofob pare a avea rolul preponderent în formarea de structuri supramoleculare, prin asocierea moleculelor care posedă și grupări polare și hidrofobe (fig. 6.14), atunci cînd se găsesc în mediu apos. Tendințele contrare ale celor două tipuri de grupări determină moleculele amfifile dizolvate în apă să se agrege, astfel ca lanțurile hidrocarburice „să evite" la maximum contactul cu apa. Acest lucru se realizează prin formarea unor micele — particule de formă elipsoidală (sau sferică) în cadrul cărora moleculele amfifile stau cu capetele polare spre exterior și cu catenele hidrofobe în interior (fig. 6.15).

Forma și dimensiunile micelelor depind atît de factori geometrici, cît și energetici. Din figura 6.15, *A* rezultă clar că miezul hidrofob al micelei nu poate avea o rază mai mare decît catena hidrocarburică, adică de ordinul a 15 Å. Într-o micelă atît de mică nu pot fi însă decît puține molecule, așa că între capetele lor polare rămîn locuri libere în care apa este în contact cu catenele hidrofobe. De aceea micelele tind să se agrege în continuare, formînd structuri discoidale în care este un dublu strat de grupări hidrofile în interior.

Moleculele de fosfolipide (componentul major al membranelor biologice) au cîte două catene hidrocarburice legate de un capăt polar, ceea ce face ca agregarea pe baza efectului hidrofob să nu ducă la micele, deoarece între capetele polare ar rămîne spații libere mari, ci la vezicule în interiorul cărora se află apă, deci în general la dublu straturi (fig. 6.15, *B*).

Formarea de vezicule este prima etapă de compartimentare, începutul delimitării unei „celule". Zona hidrocarburică a dublului strat lipidic ce

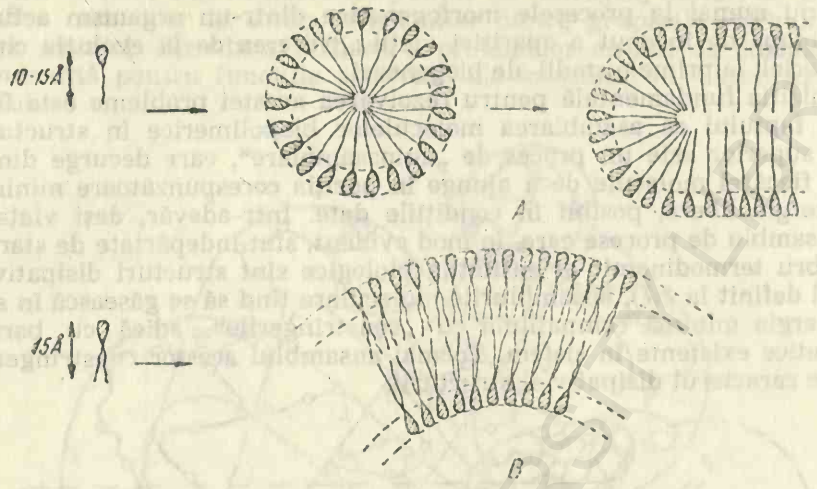



Fig. 6.15. Formarea de micele (*A*) și de dublu straturi (*B*) prin autoasocierea moleculelor amfifile cu una și, respectiv, două catene hidrofobe.

înconjoară vezicula, groasă de ≈30 Å, este o barieră în calea trecerii ionilor și a oricăror molecule hidrofile, așa încît compoziția și reacțiile care pot avea loc în interiorul veziculei nu mai depind de mediul extern, cît timp vezicula rămîne intactă. Această relativă independență a mediului intern (intracelular) trebuie să se asocieze însă în cazul oricărei celule cu posibilitatea unor „comunicări" dirijate, controlabile cu exteriorul, de unde să fie preluați metaboliții necesari menținerii, diversificării și creșterii structurilor. Singurele molecule capabile să aibă o mare specificitate sînt proteinele, a căror amplasare în straturile duble lipidice este în mare măsură determinată tot de efectul hidrofob.

După cum s-a arătat în subcapitolul *6.2*, un lanț polipeptidic liniar se pliază spontan căpătînd o anumită structură secundară și una terțiară în funcție de secvența de aminoacizi și de mediul în care se găsește. Majoritatea proteinelor în soluție apoasă au o conformație globulară, cu grupările polare spre exterior și cu porțiunile hidrofobe ale lanțului dispuse la interior, pentru a evita în cît mai mare măsură contactul cu apa. Proteinele globulare astfel structurate se atașează sau se includ într-un dublu strat fosfolipidic, în așa fel încît zonele hidrofobe să fie la interiorul stratului hidrocarburic, iar zonele hidrofile să fie în straturile polare și la exterior (fig. 6.16).

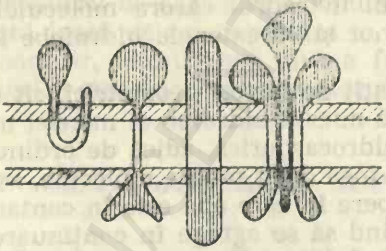


Fig. 6.16. Ilustrare a includerii proteinelor globulare într-un dublu strat lipidic. Zonele *hașurate* sînt polare (hidrofile), iar cele *albe* sînt hidrofobe.

Trebuie reținut faptul că autoasamblarea lipidelor și a proteinelor pe baza efectului hidrofob permite ca structurile astfel formate să fie cvasifluide și deformabile, deoarece între molecule nu se exercită forțe de atracție care să le țină în poziții rigid determinate. Fluiditatea și posibili-

tatea inserării altor componenți sînt esențiale pentru locomoția, creșterea și refacerea celulară. Desigur, însă, că atunci cînd trebuie să rezulte o structură spațială stabilă, așa cum ar fi conformația unei proteine funcționale sau un ansamblu multicelular (țesut etc.), rolul esențial îl au forțele de atracție propriu-zisă.

*

Încheind această prezentare a principalelor aspecte biofizice ale organizării materiei vii, este utilă sublinierea următoarelor aspecte :

— majoritatea materiei organice din toate organismele este alcătuită din componenți macromoleculari — *biopolimeri* — care, deși pot fi descompuși într-un număr restrîns de tipuri de *monomeri*, sînt de o extremă diversitate ;

— proprietățile și interacțiile acestor componenți macromoleculari sînt determinate nu numai de compoziția lor chimică ci și de structurarea lor spațială multiplă (structurile secundară, terțiară, cuaternară) ;

— interacțiunile moleculare din materia vie au un grad înalt de specificitate datorită complementarității structurale a moleculelor care interacționează (de exemplu, o enzimă și substratul corespunzător) ;

— în afară de propria lor structurare multiplă, componenții macromoleculari ai materiei vii alcătuiesc formațiuni supramoleculare, din care se realizează organitele celulare, celulele, pînă la întregul organism ; astfel, toate procesele moleculare din materia vie se desfășoară într-un cadru cu grad înalt de organizare.

Toate aceste condiții diferă în mod evident față de interacțiunile moleculare din materia nevie, dar în mod la fel de evident nu contrazic, ci se bazează pe legile fizico-chimice cunoscute.

**BIBLIOGRAFIE**


Glaser, R., *Einführung in die Biophysik.* VEB Gustav Fischer, Jena, 1976.

Grémy, F. et Leterrier, F. *Éléments de biophysique,* tome 1. Edit. Flammarion, Paris, 1975.

Lehninger, A. *Biochemistry — The Molecular Basis of Cell Structure and Function.* Ch. 1, Worth Publishers, New York, 1975.

Tanford, Ch. *The hydrophobic effect and the organization of living matter. Science 200,* 1012, 1978.

Kahrig, E. und Besserdich, H. *Dissipative Strukturen.* VEB Georg Thieme, Leipzig, 1977.

Iaskowski, W. und Pohlit, W. *Biophysik,* Band 1. VEB Georg Thieme, Stuttgart, 1974.

Snell, F. M., Shulman, S., Spencer, R., Moos, C. *Biophysikalische Grundlagen von Struktur und Funktion.* S. Hirzel, Stuttgart, 1968.

# 7

# MEMBRANE, FENOMENE DE TRANSPORT ȘI BIOENERGETICĂ CELULARĂ

După cum se va vedea în cursul acestui capitol, fenomenele bioenergetice sînt indispensabil legate de membranele celulare și subcelulare, care constituie suportul structural al acestora.

## 7.1. MEMBRANE VII ȘI MEMBRANE MODEL

### 7.1.1. ROLUL ȘI STRUCTURA MEMBRANELOR VII

Membrana este un constituent celular căruia multă vreme i s-a acordat un rol mai mult pasiv în viața celulei, în special cel de izolare față de mediu și de apărare. În schimburile cu mediul, dictate de caracterul de „sistem deschis" al celulei, membrana era privită ca un fel de barieră mecanică, asemănătoare unei site. Astăzi se știe însă că membrana plasmatică, ca și alte membrane vii, au o structură complexă și îndeplinesc numeroase funcțiuni, majoritatea legate de procese metabolice fundamentale.

Deși problemele prezentate în continuare se adresează în primul rînd membranei celulare plasmatice, constatările făcute vor fi, în parte, valabile și pentru alte clase de membrane. Este vorba de epiteliile ce separă organismul de mediu sau diferitele țesuturi între ele, precum și de membranele care delimitează organitele celulare sau diferite compartimente ale acestora. Prezența celor trei categorii de membrane este legată în primul rînd de necesitatea existenței unor compartimente, în vederea dirijării și controlului fluxului de substanțe și energie. Așa cum s-a amintit deja (v. *Capit. 5*), membranele vii au proprietăți de semipermeabilitate și de selectivitate. Transportul selectiv de substanțe din celulă și către celulă este în general un proces activ, adică are loc cu consum de energie metabolică, fiind mijlocit de anumite structuri ale membranei (transportori

specifici). În același timp, membranele constituie sediul unor enzime sau complexe funcționale cu rol important în interconversia și stocarea diferitelor tipuri de energii, în desfășurarea și controlul unor reacții biochimice, în „recunoașterea" unor molecule cu rol de stimuli etc.

Nu vom insista asupra diferitelor modele referitoare la structura membranei, ci ne vom mărgini a prezenta cîteva date relativ sigure, care să permită înțelegerea rolului membranelor în procesele bioenergetice.

Cercetările au dovedit că membranele sînt formate, în esență, din lipide (mai ales fosfolipide) și proteine. Moleculele fosfolipidice sînt dispuse într-un strat dublu, astfel încît părțile lor hidrofobe vin în contact, iar cele polare rămîn descoperite spre exteriorul și, respectiv, interiorul celulei. Poziția proteinelor în cadrul membranelor este încă un subiect de discuție, dar cele mai multe observații experimentale sînt în concordanță cu așa-numitul *model al mozaicului fluid* („fluid-mosaic membrane"). Acest model se bazează pe cercetări moderne de microscopie electronică, în primul rînd pe așa-numita tehnică a *„fracturării prin înghețare"* („freeze-fracture technique"), care constă în examinarea unei replici fine (obținută cu ajutorul unor electrozi platină-carbon) a suprafeței descoperite în urma fracturării pieselor înghețate. Constatarea care s-a făcut este că fracturarea are loc, de preferință, între cele două straturi lipidice, astfel că este dezvăluită tocmai structura internă a membranei.

Combinate cu alte cercetări, asemenea observații confirmă ideea *stratului dublu* și indică faptul că printre moleculele fosfolipidice sau la suprafața lor se află molecule proteice (din loc în loc). Unele dintre ele traversează complet membrana iar altele numai parțial. Printre acestea se află complexe lipoproteice cu rol enzimatic sau de transport, molecule glicoproteice cu rol antigenic etc. O ilustrare a modelului de mozaic al mem-

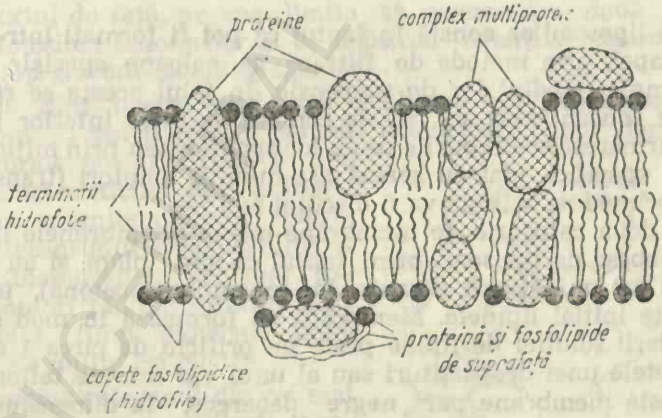



Fig. 7.1. Modelul mozaicului fluid al membranei (vezi explicația în text).

branei este redată în figura 7.1. În ceea ce privește atribuirea însușirii de „fluid", aceasta rezultă, de asemenea, din observații experimentale care atestă că există o mișcare laterală continuă în planul membranei, la care participă nu numai fosfolipidele ci și proteinele. În schimb, mișcarea în plan perpendicular, adică schimbul de fosfolipide între stratul intern și

cel extern al membranei, este extrem de rară. Toate aceste observații ne indică faptul că membrana este un „fluid structurat", care își păstrează integritatea și forma generală, dar ai cărui componenți individuali sînt în mișcare.

### 7.1.2. MEMBRANE MODEL. RECONSTITUIREA UNOR FUNCȚII BIOLOGICE ÎN ACESTE MEMBRANE

Multe din cunoștințele despre structura și funcționarea membranelor au rezultat din studiul unor membrane artificiale, adică a unor *membrane model*. Nu vom insista aici asupra modelelor relativ grosiere, chiar dacă ele au sugerat date interesante referitoare la modul de funcționare al membranelor vii, ci ne vom opri asupra a două modele, care pot fi numite *artificiale* numai pentru motivul că se obțin prin anumite tehnici inventate de om. În amîndouă cazurile este vorba despre *membrane lipidice* (în particular, *fosfolipidice*), cu strat dublu („bilayer lipid membranes"). Unul dintre modele este vezicular, așa-numiții *liposomi*, iar celălalt este plan, așa-numitele *membrane lipidice negre*.

Există diferite metode de a obține liposomi, dintre care cea mai rapidă și sigură este aceea a ultrasonării. Materialul fosfolipidic, extras chiar din membrane naturale, este suspendat într-o soluție apoasă și supus acțiunii ultrasunetelor. La început, prin dispersarea lipidelor, se obține o soluție lăptoasă în care predomină vezicule cu mai multe straturi duble, între care a fost închisă o cantitate oarecare de solvent. Pe măsura dispersării tot mai accentuate, soluția se clarifică complet. În acest moment, s-a atins stadiul de liposom propriu-zis (veziculă cu un singur strat dublu). Compoziția, structura și comportarea acestei vezicule este foarte apropiată de aceea a membranei plasmatice.

Avantajul liposomilor constă în faptul că pot fi formați într-o anumită soluție, iar apoi, prin metode de filtrare pe coloane speciale, se poate schimba complet mediul lor de suspensie. În felul acesta se realizează o diferență de concentrație sau (și) de compoziție între interior și exterior, iar apoi se urmăresc schimburile ce au loc spontan sau prin mijlocirea unor transportori specifici, mai cu seamă așa-numiții ionofori (transportori de ioni), al căror mod de acțiune va fi discutat mai jos.

Cea de a doua categorie de membrane-model (membranele lipidice negre) se deosebesc de liposomi prin faptul că sînt plane și au încorporat în structura lor un solvent organic (de exemplu, acetonă), în care au fost dizolvate inițial lipidele. Membrana se formează în mod spontan în urma întinderii soluției de lipide peste un orificiu de circa 1 $mm^2$, practicat în peretele unei despărțituri sau al unui vas mic de teflon sau polietilenă. Aceste membrane par negre deoarece, la dimensiunile lor de circa 50 Å grosime, nu reflectă razele luminoase. Avantajul îl constituie dimensiunile relativ mari ale celor două compartimente pe care le desparte membrana, care sînt direct accesibile unor măsurători macroscopice cu ajutorul electrozilor de *p*H sau a celor specifici pentru diverși ioni, precum și măsurătorilor electrice de conductibilitate și capacitate specifică.

În cazul ambelor modele, dar mai ales în cazul liposomilor, au fost puse la punct tehnici pentru încorporarea unor proteine (de exemplu, complexe enzimatice sau de transport), astfel încît au putut fi realizate și studiate

anumite funcţii, exact ca în cazul membranelor naturale, dar cu avantajul simplităţii şi al posibilităţilor multiple de manipulare şi control pe care le oferă membranele model.

În terminologia obişnuită, aceste încorporări poartă numele de *reconstituiri*. Există diferite tehnici de reconstituire. În principiu, ele pot fi grupate în două categorii : *a*) cele care folosesc în mod exclusiv sonicarea şi *b*) cele care folosesc ca auxiliar detergenţi. Metodele care folosesc detergenţi au o aplicabilitate mai largă. În acest caz, fosfolipidele sînt sonicate în prezenţa unui detergent (de exemplu, 1% colat de K). După aceea se adaugă proteina, iar complexul rezultat este introdus într-un tub de dializă şi dializat pentru îndepărtarea detergentului. În urma acestui proces, o mare parte din proteină este încorporată în membrana fosfolipidică, rezultînd vezicule închise la care se pot pune în evidenţă anumite funcţiuni şi care au caracteristici asemănătoare celor din membrana vie. Amintim faptul că prima metodă folosită pentru reconstituiri biologice de acest fel a fost metoda *dializării colatului* („cholate dialysis method"). Prin această metodă, R a c k e r şi colaboratorii au reconstituit funcţia de sinteză a ATP-azei mitocondriale. Pe aceeaşi cale au fost reconstituite de către H i n k l e şi colab. anumite porţiuni ale lanţului respirator, numite *locuri* sau regiuni de cuplare a oxidării cu fosforilarea („coupling sites"). Ultimul segment al lanţului respirator, citocromoxidaza, a fost reconstituit nu numai în liposomi ci şi în membranele negre. Lista reconstituirilor este mult mai lungă, dar nu insistăm asupra lor.

### 7.1.3. UNELE METODE SPECIALE FOLOSITE ÎN STUDIUL MEMBRANELOR

În contextul de faţă, ne vom limita să prezentăm două metode speciale : *a*) folosirea ionoforilor şi *b*) folosirea agenţilor marcanţi impermeanţi („impermeant labelling agents").

**Ionoforii.** Sînt transportori mai mult sau mai puţin specifici pentru anumiţi ioni. Ei pot fi folosiţi pentru transportul unor ioni prin membrane naturale sau artificiale şi, din studiul caracteristicilor de transport, se pot face anumite deducţii referitoare la mecanismul transportului şi structura membranei. Cei mai cunoscuţi ionofori fac parte din *grupul antibioticelor*, fiind molecule polipeptidice, de multe ori ciclice.

*Valinomicina* este unul din cei mai cunoscuţi şi frecvent utilizaţi ionofori (fig. 7.2). Este un dodecapeptid ciclic ce formează cu ionul $K^+$ un complex 1 : 1, solubil în lipide, facilitînd difuzia acestui ion prin membrane. Specificitatea sa pentru potasiu este mare, deşi nu absolută. Este folosită pentru crearea unor poten-

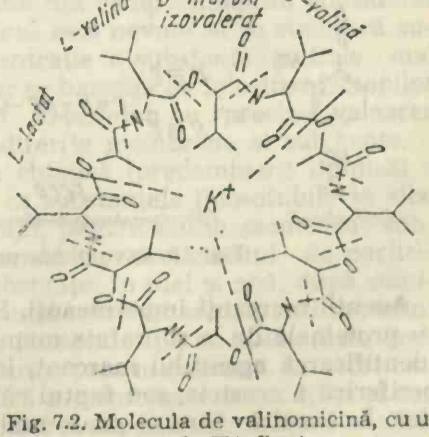



Fig. 7.2. Molecula de valinomicină, cu un ion de $K^+$ fixat.

ţiale de membrană pe baza unor diferenţe în concentraţia ionului $K^+$ de o parte şi de alta a membranei (fig. 7.3), sau pentru distrugerea unui potenţial creat de un alt ion, dacă în sistem se află şi ioni $K^+$ (fig. 7.4).

*Nigericina*, un alt ionofor, este un acid carboxilic solubil în lipide, care facilitează un schimb electron-neutru de $K^+$ sau $Na^+$ cu $H^+$. Datorită acestui fapt, nigericina este folosită pentru echilibrarea unui gradient chimic, fără a anula potenţialul electrochimic de membrană.

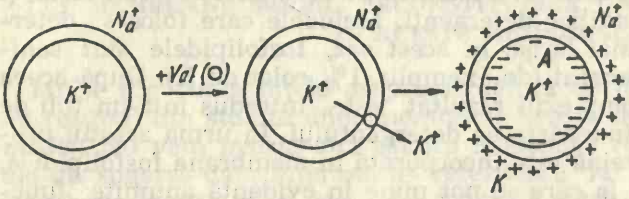



Fig. 7.3. Crearea unui potenţial de membrană prin adăugarea de valinomicină, într-un sistem de liposomi care prezintă un gradient de $K^+$.

Nigericina şi valinomicina, folosite concomitent, pot însă disipa complet un potenţial electrochimic.

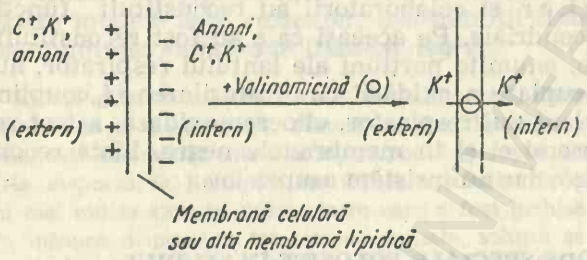



Fig. 7.4. Disiparea unui potenţial de membrană prin adăugarea de valinomicină, în prezenţa ionilor de $K^+$.

*Gramicidina* formează în membrane pori care permit un transfer relativ nespecific de cationi monovalenţi. Datorită acestui fapt, ea poate disipa atît componenta chimică, cît şi pe cea electrică a unui potenţial electrochimic.

*Agenţii decuplanţi* au fost numiţi astfel deoarece decuplează procesul de oxidare de către cel de fosforilare (vezi *Subcapit. 7.2*). Ei s-au dovedit a fi transportori de protoni (*protonofori*). În general sînt acizi slabi, solubili în lipide, la care sarcina electrică este delocalizată printr-un sistem de orbitali $\pi$, ceea ce facilitează trecerea lor prin membrane. Cîteva exemple de agenţi decuplanţi sînt date în figura 7.5.

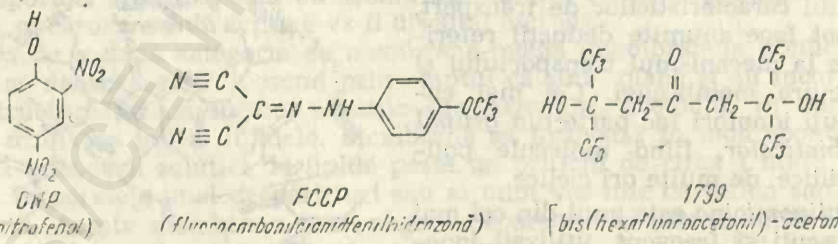



Fig. 7.5. Exemple de protonofori (agenţi decuplanţi).

**Agenţii marcanţi impermeanţi.** Sînt substanţe chimice care reacţionează cu proteinele de la suprafaţa membranei, dar care nu pătrund în interior. Identificarea agentului marcant, legat de una din proteine, indică poziţia periferică a acesteia, sau faptul că are cel puţin unul din capete la exterior. În cazul în care se poate realiza cu uşurinţă o inversare a polarităţii membranei, aşa cum este cazul particulelor submitocondriale faţă de

mitocondrii, sau a fantomelor de hematii inversate („inverted ghosts"), prin marcare cu agenți impermeanți, se poate stabili care dintre proteine sînt localizate originar pe fața internă a membranei. Dacă unele proteine apar marcate și din exterior și din interior, se trage concluzia că ele străbat membrana. Așa sînt citocromoxidaza și citocromii-*b* în membrana mitocondrială. Proteinele care nu apar marcate nici din interior nici din exterior sînt, probabil, înglobate în grosimea membranei.

### 7.1.4. TRANSPORTUL PRIN MEMBRANE VII

Existența celulei vii ca sistem termodinamic deschis impune prezența unui schimb permanent de substanțe între mediul extern și cel intern. Acest lucru poate fi realizat atît prin distrugerea locală a integrității membranei, cum este cazul proceselor de fagocitoză (înglobarea unor particule relativ mari, prin emiterea de pseudopode) sau pinocitoză (înglobarea unor picături mici ce conțin anumite substanțe coloidale și macromoleculare, prin formarea unei invaginații locale), sau cu păstrarea integrității membranei, prin procese de *difuzie* și *transport activ*, adică prin procese bazate pe permeabilitatea membranei. În continuare, ne vom ocupa numai de acest aspect al problemei.

**Transportul pasiv.** Considerînd faptul că atît mediul intern cît și cel extern sînt constituite din soluții apoase, procesul fizic primordial care stă la baza schimbului de substanță între celulă și mediu este difuzia. Întrucît, în acest caz, gradientul de concentrație se stabilește, practic, pe o distanță egală cu grosimea membranei, *legea I a lui Fick* (v. ecuația 5.20) poate fi scrisă:

$$\frac{dm}{dt} = -S\frac{D}{x}(c_1 - c_2) = -SP(c_1 - c_2), \qquad (7.1)$$

unde $x$ înseamnă grosimea membranei, $c_1$ și $c_2$ = concentrațiile substanței considerate de o parte și de alta a membranei, iar $D/x = P$ reprezintă coeficientul de permeabilitate. $P$ se exprimă deobicei în cm/s și reprezintă viteza de pătrundere prin membrană a diferite substanțe, în anumite condiții date ale diferenței de concentrație. Asemenea coeficienți pot fi calculați dacă se măsoară fluxurile de substanță (influxul sau/și efluxul), adică cantitatea de substanță care intră sau iese din compartimentul considerat în unitatea de timp. Desigur, pentru calcul este nevoie să se cunoască suprafața de schimb și diferența de concentrație a substanțelor. Cele mai moderne metode de măsurare a fluxurilor se bazează pe folosirea izotopilor radioactivi. Prin folosirea lor, s-a putut determina cu precizie valoarea coeficienților de permeabilitate pentru diferite membrane și substanțe.

Dacă luăm în considerare compoziția chimică (predominant lipidică) a membranelor biologice, este de așteptat ca substanțele liposolubile să aibă coeficienți mari de permeabilitate. De fapt, pentru multe asemenea substanțe permeabilitatea lor este proporțională cu coeficientul de partiție ulei/apă (raportul dintre concentrația substanței în ulei și apă, după stabilirea echilibrului de o parte și de alta a unei interfețe ulei/apă). Interesant este însă faptul că unele substanțe care nu se dizolvă în lipide (apă, ioni, aminoacizi, glucoză etc.) pătrund relativ ușor prin membrană. În acest caz, se consideră că există o structură specifică a membranei, anumiți pori sau chiar transportori, care facilitează pătrunderea acestor substanțe. Mecanis-

mul nu este același pentru toate categoriile de substanțe. În unele cazuri pătrunderea poate să fie *pasivă*, în conformitate cu anumite forțe fizico-chimice, iar în alte cazuri poate fi *activă*, cu cheltuială de energie metabolică. Ne vom rezuma deocamdată la primul aspect, adică la așa-numitul transport pasiv.

În conformitate cu *ecuația* (7.1), s-ar părea că singura forță care determină difuzia este diferența de concentrație. Nu trebuie uitat însă că, în cazul membranelor vii, există și o polarizare electrică a acestora. Potențialul de membrană constituie și el o forță importantă de difuzie. Vorbind în termeni termodinamici, energia liberă utilizată în procesul de difuzie este dată de un potențial electrochimic. În sens mai general, este posibil să intervină și un gradient de presiune și chiar unul de temperatură, dar aceștia nu constituie factori de importanță universală în sistemele biologice și, de aceea, nu îi vom discuta.

Substanțele încărcate electric nu se distribuie simplu, în conformitate cu gradientul de concentrație (în cazul de față, cu diferența de concentrație între cele două fețe ale membranei), deoarece ele sînt supuse ambelor componente (și electrică și de concentrație) ale gradientului electrochimic. În felul acesta, ele se pot acumula împotriva diferenței de concentrație, pe seama potențialului electric. De exemplu, pătrunderea unui cation ($C^+$), a cărui concentrație este inițial la echilibru chimic, va fi favorizată de existența unui potențial de membrană cu polaritatea (+) la exterior și (—) la interior și va fi frînată de un potențial cu polaritate inversă. Concentrația finală a ionului în fiecare compartiment va fi dictată de legea echilibrului electrochimic. Valoarea potențialului la echilibru este dată de *legea lui Nernst* (v. ecuația 5.16). În cazul în care este vorba de mai mulți ioni, se scrie o *ecuație de tip Nernst* pentru fiecare din ei, iar potențialul total va fi o sumă de potențiale.

Ca regulă generală, orice transport care se face conform gradientului electrochimic este considerat drept transport pasiv. Există și un caz special de transport pasiv, așa-numita *difuzie facilitată*. Procesul se supune și în acest caz regulii de mai sus, dar se desfășoară cu o viteză mult mai mare decît o difuzie simplă. Cu alte cuvinte, exact ca în cazul reacțiilor catalizate, nivelul echilibrului final nu este afectat, dar se atinge mult mai repede. De aceea, acest tip de transport poate fi descris, formal, printr-o *cinetică de tip Michaelis-Menten* (valabilă pentru reacțiile enzimatice). Ca exemple de difuzie facilitată amintim : transportul glucozei prin membrana hematiei, transportul ionilor $K^+$ în prezența valinomicinei (prin membrane naturale și artificiale) și transportul apei. În condiții de echilibru osmotic, apa se supune legilor obișnuite ale difuziei. În condiții de dezechilibru osmotic, apa este transportată însă mult mai rapid, ca și cum trecerea unor molecule de apă ar antrena trecerea altora. Aceasta ridică problema existenței unor structuri speciale (pori sau transportori) care să favorizeze trecerea apei în anumite condiții, așa cum se pare că există în cazul altor procese de difuzie facilitată. Amintim că transportorul glucozei din hematii a fost izolat și reconstituit în liposomi, realizîndu-se fenomene de transport specifice (sensibile la aceiași inhibitori ca și procesul natural).

**Transportul activ.** Ideea care a stat inițial la baza acordării numelui de „transport pasiv" a fost aceea a neintervenției active a celulei (prin chel-

tuială de energie metabolică). Acest lucru nu pare să fie adevărat în toate cazurile definite ca transport pasiv. De exemplu, potențialul de membrană, care permite acumularea unor substanțe împotriva gradientului de concentrație, dar în conformitate cu gradientul electrochimic (deci, după regula transportului pasiv), este în fond menținut pe bază de cheltuială metabolică. Chiar și în cazul difuziei facilitate se ridică problema originii și „întreținerii" structurilor specifice (a transportorilor) care participă în acest proces. Desigur că, pentru sinteza și întreținerea lor, s-a cheltuit și se cheltuiește energie.

În opoziție cu transportul pasiv, transportul activ se definește ca acea formă de transport care necesită energie metabolică. După cum am discutat mai sus, această condiție este însă foarte relativă, deoarece multe din transporturile calificate ca pasive necesită, în ultimă instanță, energie, respectiv sînt cuplate — chiar dacă în mod foarte indirect și îndepărtat — cu un proces metabolic furnizor de energie. În unele cazuri această cuplare este evidentă, imediată, și, ca atare, au fost catalogate drept transport activ. Există diferite metode de a decide asupra caracterului activ sau pasiv al unui anumit fenomen de transport. Amintim, în acest sens, așa-numita *metodă a curentului de scurtcircuit*, care se aplică numai în cazul membranelor mari (epitelii). Aceasta constă în aplicarea unui potențial care să anuleze gradienții de concentrație și potențialul electric care determină fluxurile pasive și măsurarea consecutivă a curentului electric dintre cele două compartimente, curent care se datorează fluxului activ de ioni (fig. 7.6). O metodă mai simplă și cu aplicabilitate generală este cea a utilizării unor agenți blocanți specifici și, respectiv, a *unor agenți inhibitori* ai proceselor generatoare de energie (în primul rînd ai oxidării fosforilante). Din prima categorie amintim glicozidul cardiac numit *ouabaină*, care blochează pompa de Na/K din membrana celulară, așa cum se va arăta mai jos. Din a doua categorie amintim *cianura* și *azida*, ca inhibitori ai respirației și *oligomicina*, care blochează formarea și (sau) utilizarea legăturilor fosforice macroergice.

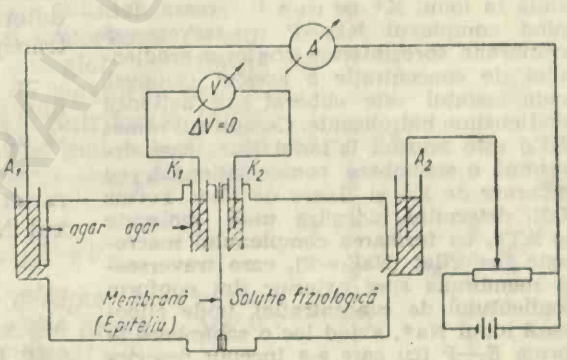



Fig. 7.6. Schema dispozitivului de determinare a transportului activ de Na+ prin pielea de broască : $K_1$, $K_2$ — electrozi de calomel ; $A_1$, $A_2$ — electrozi de argint — argint clorurat.

Întrucît caracteristica principală a transportului activ este aceea a cuplării cu un proces furnizor de energie, vom arăta mai îndeaproape cum se realizează acest fenomen. Se știe că forma chimică esențială de înmagazinare a energiei în celulă este ATP-ul. Dacă transportul se efectuează ca o consecință directă a utilizării energiei eliberate prin hidroliza moleculei de ATP, atunci se vorbește despre un *cuplaj direct* (*transport activ primar*). Așa se pare că este cazul unor pompe de ioni de tipul pompei de Na/K și a celei de $Ca^{2+}$. Pompa

de Na/K reprezintă mecanismul activ de menținere a asimetriei ionice a membranei celulare, în privința ionilor de $Na^+$ și $K^+$. Prin acțiunea ei se menține o concentrație ridicată de $Na^+$ la exterior și $K^+$ la interior, fapt care reprezintă o condiție esențială a unor manifestări electrice ale celului (v. *Capit. 8 — Fenomene bioelectrice).* Întrucît o astfel de pompă este dependentă de energia furnizată de hidroliza ATP-ului, se poate spune că, de fapt, este vorba despre o enzimă (ATP-ază) dependentă de $Na^+$ și $K^+$. Bazat pe observațiile din literatură și pe experimentele proprii, Post (1974) a propus o anumită schemă a funcționării acestei enzime ca sistem biochimic. În figura 7.7 rezultatele acestei scheme sînt transpuse la situația concretă a membranei, astfel încît să se poată înțelege funcționarea acestui complex ca sistem biofizic de transport.

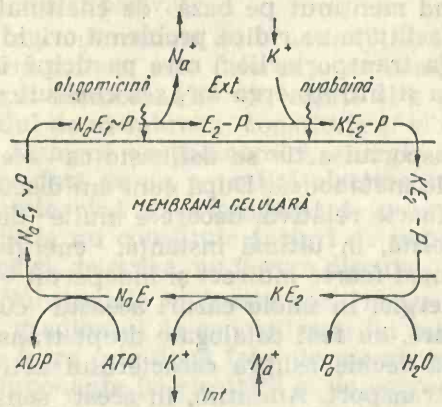



Fig. 7.7. Modelul schematic al funcționării pompei de $Na^+/K^+$, ca ATP-ază dependentă de acești ioni. Enzima (ATP-aza) are două forme : $E_1$ și $E_2$, care funcționează ciclic, transformîndu-se una în alta, în urma unor schimbări conformaționale dictate de prezența ionilor implicați și a energiei furnizate de ATP. Pentru a ușura înțelegerea schemei, se va porni cu forma fosforilată $E_2$—P la exterior. Această formă este sensibilă la ionul $K^+$ pe care îl fixează, formînd complexul $KE_2$—P ce traversează membrana spre interior (conform gradientului de concentrație a acestui compus), unde fosfatul este eliberat sub acțiunea unei enzime hidrolizante. Complexul rămas ($KE_2$) este sensibil la ionul $Na^+$, care determină o schimbare conformațională, cu eliberare de $K^+$ și fixare de $Na^+$. Forma $NaE_1$ determină hidroliza unei molecule de ATP, cu formarea complexului macroergic fosforilat ($NaE_1 \sim P$), care traversează membrana spre exterior (tot conform gradientului de concentrație), unde eliberează ionul $Na^+$, avînd loc o schimbare la forma $E_2$—P (cu care s-a început descrierea ciclului).

Organizarea ciclului, conform figurii 7.7, se bazează, printre altele, pe următoarele observații :

— $Na^+$ trebuie să se afle la interior, iar $K^+$ la exterior, pentru a determina activarea enzimei și transportul acestor ioni ;

— ouabaina blochează funcționarea pompei numai dacă se află la exterior ;

— oligomicina împiedică eliberarea ionului de $Na^+$ din complexul $NaE_1 \sim P$ ;

— locul de acțiune al ATP-ului este la interior (citoplasmă). În alte cazuri, hidroliza ATP-ului este cuplată cu transportul unor ioni diferiți de cei în cauză, în special cu transportul de protoni, prin care se realizează un gradient electrochimic a cărui energie este folosită, în final, pentru transportul ionului considerat (fig. 7.8). Semnificația acestui fapt, ca și anumite exemple de acest fel, vor fi discutate în subcapitolul următor.

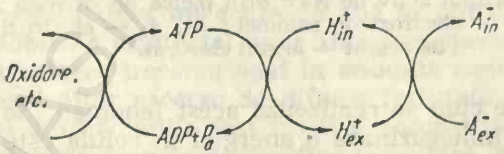



Fig. 7.8. Cuplaj indirect al transportului de substanțe, cu degradarea ATP-ului (cotransport sau „simport" al unui anion cu protonul).

## 7.2. BIOENERGETICA

### 7.2.1. PROBLEME GENERALE ALE BIOENERGETICII

Bioenergetica este o știință complexă a cărei origine și apartenență este disputată deopotrivă de biochimie și biofizică. Implicațiile ei sînt esențiale în toate ramurile dinamice ale biologiei, în special în fiziologie și ecologie. Obiectul acestei științe îl constituie fenomenele energetice din biosferă, respectiv schimbul de energie dintre organism și mediu și transformările energetice care au loc la diferite nivele de organizare.

Există, în principal, două tendințe în bioenergetică : una *ecologică* și alta *celulară*. Anumite aspecte ale acestor tendințe, în special a celei ecologice, au fost prezentate la capitolul de termodinamică biologică. Alte aspecte vor fi prezentate în cadrul cursurilor de biochimie, fiziologie și ecologie. În cele ce urmează, vom insista în special asupra unor aspecte preponderent biofizice de nivel celular și subcelular.

### 7.2.2. ORIGINEA ENERGIEI ÎN BIOSFERĂ. CUPLAJUL ÎN BIOENERGETICĂ

După cum s-a arătat la *2.3.1*, sursa inițială a fenomenelor energetice din biosferă este Soarele, respectiv energia sa radiantă. Ceva mai puțin decît a mia parte din energia solară ajunsă la suprafața Pămîntului este preluată de către plantele verzi, singurele viețuitoare care dispun de structuri speciale capabile să capteze energia luminoasă și să o convertească în energie chimică.

Forma cea mai comună și importantă de stocare ușor convertibilă a energiei, sub formă chimică, este reprezentată de legăturile macroergice din molecula de adenozintrifosfat (ATP) (fig. 7.9). Prin hidroliza acestei molecule rezultă adenozindifosfat (ADP), fosfat anorganic ($P_a$) și energie :

$$ATP + H_2O \rightleftharpoons ADP + P_a.$$

Reacția se desfășoară spre dreapta, cu o variație relativ mare de energie liberă : $\Delta G^\circ = -7{,}3$ kcal/mol (la $t = 25\ ^\circ C$ și $pH = 7$).

Multe tipuri de travaliu biologic depind de cedarea energiei înmagazinată în molecula de ATP unor reacții care se desfășoară cu consum de energie. Cu alte cuvinte, reacțiile consumatoare de energie sînt cuplate cu cele furnizoare de energie. Această idee a cuplajului constituie un punct central în bioenergetică. Pentru o mai bună înțelegere, să considerăm următoarele reacții :

$$A \overset{\Delta G_1}{\rightleftharpoons} B + C\ ;\quad B + C \overset{\Delta G_2}{\rightleftharpoons} D + E.$$

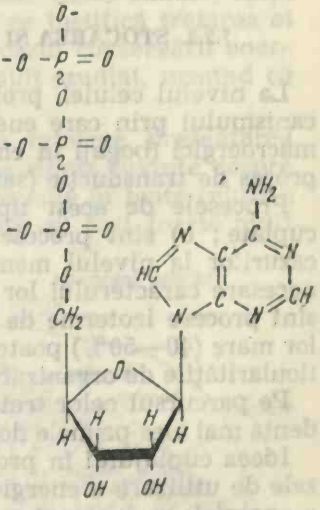


Fig. 7.9. Structura moleculei de ATP. Este de remarcat faptul că la un $pH = 7$ molecula este disociată, avînd, practic, 4 sarcini negative. (Simbolul ~ înseamnă legătură macroergică).

Condiția ca reacția globală :

$$A \xrightarrow{\Delta G} D+E$$

să se desfășoare în sensul indicat de săgeată este :

$$\Delta G_1+\Delta G_2=\Delta G<0, \qquad (7.2)$$

adică să existe o scădere netă a energiei libere (condiția de spontaneitate). De exemplu, dacă pentru prima reacție variația energiei libere standard este $\Delta G_1=-7$ kcal/mol, iar pentru a doua $\Delta G_2=+4$ kcal/mol, reacția globală se va desfășura în sensul indicat de săgeată, cu o variație negativă de energie liberă $\Delta G=(-7+4)$ kcal/mol$=-3$ kcal/mol. După cum se poate vedea, condițiile de desfășurare a unei reacții în care are loc o variație pozitivă de energie liberă sînt :

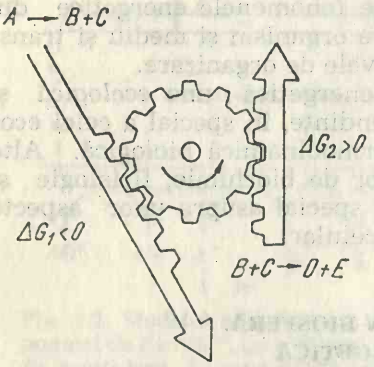



Fig. 7.10. Cuplarea unei reacții care se desfășoară cu o scădere mare a energiei libere ($\Delta G_1 < 0$) cu o reacție ce se desfășoară cu consum de energie ($\Delta G_2 > 0$), dacă $\Delta G_1+\Delta G_2<0$.

— existența unei alte reacții, care se desfășoară cu o variație negativă de energie liberă, mai mare în valoare absolută ;

— cele două reacții trebuie să aibă intermediari comuni.

Ideea cuplajului a două reacții, și în general a două procese, poate fi redată și grafic (v. fig. 7.8). Un mod sugestiv de prezentare este și cel al roții dințate (fig. 7.10).

### 7.2.3. STOCAREA ȘI UTILIZAREA ENERGIEI LA NIVEL CELULAR

La nivelul celulei, problema centrală a bioenergeticii este aceea a mecanismului prin care energia este înmagazinată sub forma unor compuși macroergici (bogați în energie) și apoi utilizată. La acest nivel are loc un proces de transducție (sau conversie) a unei forme de energie în alta.

Procesele de acest tip au următoarele caracteristici : *a*) sînt procese cuplate ; *b*) sînt procese enzimatice vectoriale, localizate în majoritatea cazurilor la nivelul membranelor, care le oferă condițiile organizatorice necesare caracterului lor vectorial ; *c*) din punct de vedere termodinamic, sînt procese izoterme de joasă temperatură (37 °C), astfel că randamentul lor mare (40—50%) poate fi explicat numai prin natura lor chimică și particularitățile de organizare amintite mai sus.

Pe parcursul celor tratate în continuare, vom încerca să punem în evidență mai ales primele două caracteristici.

Ideea cuplajului în procesele energetice este aplicabilă nu numai în fazele de utilizare a energiei ci și în explicarea mecanismului de conservare a energiei, ca legătură macroergică, în molecula de ATP. În cloroplastele plantelor verzi procesul poartă numele de *fotofosforilare*, deoarece se produce cu ajutorul luminii solare, iar în mitocondrii și bacterii aerobe se numește *fosforilare oxidativă*, deoarece are loc cu participarea oxigenului. Menționăm că există și anumite căi anaerobe de sinteză ale ATP-ului, pe care însă nu le vom descrie, fiind mai mult de competența biochimiei.

Fosforilarea oxidativă reprezintă fenomenul de conservare (stocare) a energiei eliberată în urma oxidării diferitelor substraturi respiratoare, ca energie chimică de legătură a fosfatului în molecula de ATP. În celula animală acest proces are loc la nivelul membranei mitocondriale interne, unde se află dispuşi atît componenţii lanţului respirator, cît şi complexul enzimatic care participă la sinteza ATP-ului (ATP-aza mitocondrială sau complexul $F_1$—$F_0$). La nivelul acestei membrane are loc deci un proces de cuplare energetică, respectiv cuplarea oxidării cu fosforilarea. Din punct de vedere biofizic, se obişnuieşte să se vorbească despre un fenomen de traducere sau transducţie energetică, ce constă în convertirea potenţialului oxidoreducător a substratelor respiratoare în energie chimică de legătură. Conform transportului activ din secţiunea 7.2.2., cuplarea reacţiilor de oxidoreducere cu cea de fosforilare poate avea loc numai dacă cele două tipuri de reacţii posedă intermediari comuni. După natura intermediarului primar în aceste reacţii, există diferite ipoteze ale cuplării energetice. Vom lua în considerare şi dezvolta mai întîi ipoteza care pare a fi cea mai susţinută de datele experimentale şi care poate fi considerată chiar teorie.

### 7.2.3.1. Teoria chemiosmotică a cuplării energetice

Conform acestei teorii, fenomenul de transducţie energetică este mijlocit de un gradient electrochimic de protoni. Această ipoteză a fost formulată de savantul englez Peter Mitchell (1961) şi îmbogăţită foarte mult în ultimii 15 ani. În contrast cu o ipoteză mai veche, care postulează existenţa unor intermediari chimici între oxidare şi fosforilare, teoria chemiosmotică postulează existenţa unui intermediar fizico-chimic, fiind în esenţă o teorie fizică a cuplării energetice, fapt ce justifică tratarea ei într-un curs de biofizică. Vom considera mai întîi cazul conservării energiei la nivelul mitocondriei, unde a fost cel mai mult studiat, urmînd ca apoi să extindem problema la bacterii şi cloroplaste.

**Conservarea energiei în mitocondrii.** Pentru a înţelege prezentarea acestei probleme considerăm că este necesar a spune cîteva cuvinte despre mitocondrie. Mitocondriile sînt organite celulare prezente în toate celulele eucariotice aerobe. Cele din ficatul de şobolan, care au fost foarte mult studiate, au o formă relativ ovală, cu cele două diametre în jur de 1 μm şi, respectiv, 2 μm. Mitocondriile au două membrane : o membrană exterioară netedă, care este permeabilă la substanţe cu greutate moleculară mică, şi o membrană internă, care are o serie de pliuri numite *criste*, impermeabilă pentru majoritatea substanţelor (fig. 7.11).

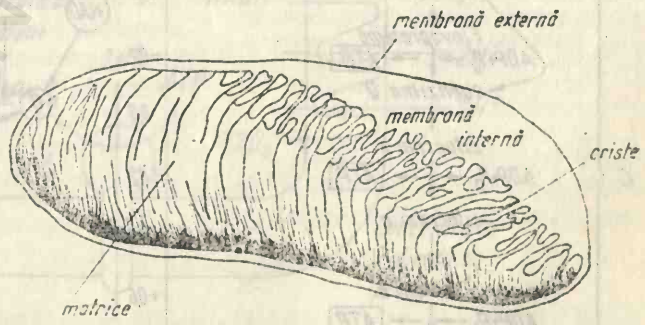



Fig. 7.11. Mitocondrie, în secţiune schematică, pentru a arăta aranjamentul membranei interne (după Lehninger).

Prezența acestor pliuri este legată de necesitatea unei suprafețe mărite, la nivelul căreia sînt dispuse o serie de complexe enzimatice, în primul rînd cele legate de transportul electronilor și protonilor și cele legate de fosforilare. În compartimentul intern (delimitat de membrana cristelor) se află citoplasma acestui organit, constituind așa-numita *matrice*. Ea este structurată, iar în interiorul ei au loc, de asemenea, unele procese biochimice importante, cum ar fi oxidarea acizilor grași și ciclul acizilor tricarboxilici (vezi cursul de *Biochimie*). Rezultatul general al acestui ciclu, numit și *ciclul Krebs*, este dehidrogenarea moleculei de acid acetic, cu formarea a două molecule de $CO_2$ și patru perechi de atomi de hidrogen :

$$CH_3COOH + 2\,H_2O \rightleftharpoons 2\,CO_2 + 8\,H.$$

Trei perechi de hidrogeni vor fi preluați de nicotinamidadenindinucleotidul oxidat ($NAD^+$), iar o pereche de coenzima Q, aceste molecule constituind punctele de „intrare" în lanțul respirator (fig. 7.12).

Ordinea în care sînt aranjați componenții lanțului respirator este dictată de valoarea potențialului lor reducător (fig. 7.13), astfel că este ușor de înțeles de ce electronii „curg" prin acest lanț către acceptorul final (oxigenul). Un atom de oxigen acceptă doi electroni și doi protoni, dînd naștere unei molecule de apă.

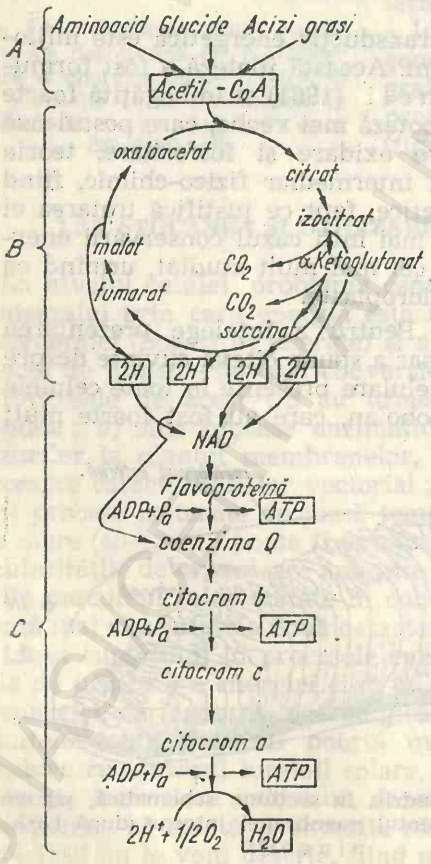
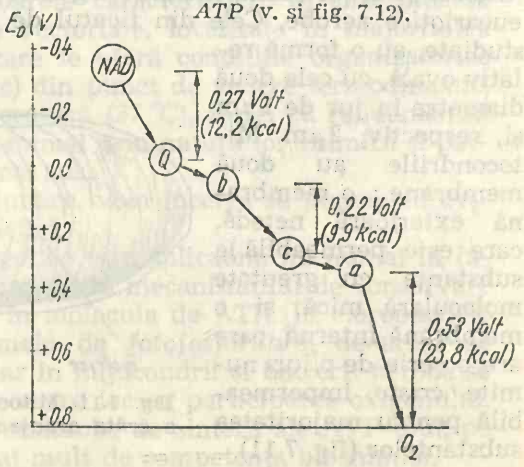



Fig. 7.12. Etapele procesului de respirație celulară : *A* — activarea produșilor de metabolism prin formarea de acetil-CoA (acetilcoenzimă A); *B* — ciclul acizilor tricarboxilici, generator de atomi de hidrogen ; *C* — fosforilarea oxidativă, asociată energiei eliberate la nivelul lanțului respirator. Produșii finali ai fiecărui stadiu sînt figurați în chenar (schemă adaptată după Lehninger).

Fig. 7.13. Schema energeticii lanțului respirator : *NAD* — nicotinamidadenindinucleotid ; *Q* — coenzima *Q* ; *b*, *c* și *a* — citocromii respectivi. În cele trei locuri indicate, diferența de energie este suficient de mare pentru sinteza unei molecule de *ATP* (v. și fig. 7.12).



Teoria chemiosmotică postulează că energia eliberată în urma „curgerii" electronilor prin acest lanț este însoțită de o translocare de protoni din matricea mitocondrială către exterior, astfel că energia, înmagazinată inițial ca potențial oxidoreducător, este conservată într-un gradient electrochimic de protoni. Acesta este primul pas în transducția energetică. Cel de al doilea constă în utilizarea gradientului protonic pentru sinteza ATP-ului. Acest fapt este realizat prin intermediul complexului ATP-azic, care funcționează cu o „pompă de protoni", cuplînd translocarea acestora îndărăt în matrice cu sinteza moleculei de ATP (fig. 7.14).

Vom arăta însă, în mod concret, cum se realizează gradientul protonic și ce condiții sînt necesare pentru convertirea energiei sale în energia unor legături chimice.

**Organizarea lanțului respirator în translocarea de protoni.** După cum rezultă din figura 7.14, lanțul respirator este organizat „în zig-zag" (sau bucle), traversînd membrana de trei ori în ambele direcții. Pentru o translocare de protoni din matrice către exterior, este necesar ca în etapele în care transportul este direcționat către exterior să existe și un transportor de protoni. Există, în acest sens, atît dovezi de ordin funcțional, cît și structural. Astfel, ejectarea de protoni, în urma inițierii respirației, este un fapt cert. S-a măsurat chiar și stoichiometria acestei ejecții și s-a constatat că pentru fiecare pereche de electroni transportată de-a lungul lanțului respirator, de la NAD la $O_2$, sînt translocați 6 protoni, adică $H^+/2\,e^-$ (sau $H^+/O)=6$.

Dovezile de ordin structural care vin în sprijinul ideii de organizare asimetrică, „în bucle", au fost obținute prin studiul poziției diferitelor componente ale lanțului respirator (așa cum s-a descris în *Subcapit. 7.1.3. — Metoda agenților marcanți impermeanți*), precum și în urma unor studii referitoare la accesibilitatea substratului (de exemplu, NAD-ul este accesibil respirației numai dacă se găsește în matrice etc.).

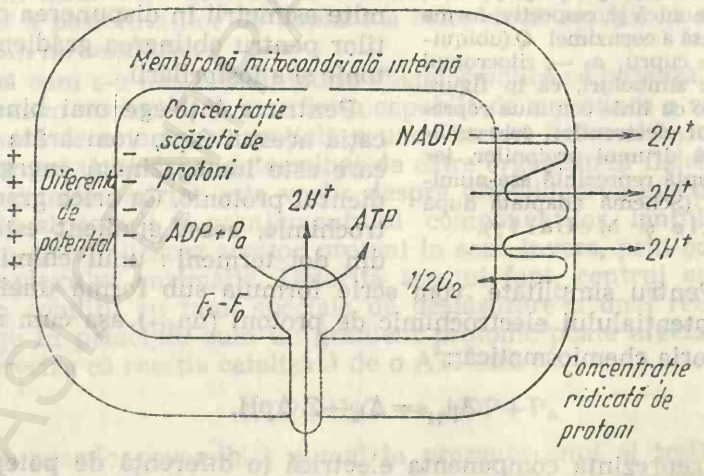



Fig. 7.14. Cuplarea oxidării cu fosforilarea în mitocondrie, conform teoriei chemiosmotice (schemă adaptată după Hinkle și McCarty).

În figura 7.15 este prezentată dispunerea concretă a componenților lanțului respirator, așa cum reiese din datele experimentale și unele raționalizări făcute de susținătorii teoriei chemiosmotice. S-ar părea, din figură, că există numai două bucle, cea de a treia fiind mai curînd funcțională decît structurală. Aranjamentul de mai sus a fost impus de lipsa unui al treilea transportor de protoni și de comportarea cinetico-enzimatică particulară a citocromilor-*b* și, mai ales, a coenzimei *Q*, ceea ce sugerează că aceasta ar putea transporta protoni în 2 trepte (așa-numitul *ciclu Q*, propus de P. Mitchell), prin intermediul formelor QH· și $QH_2$.

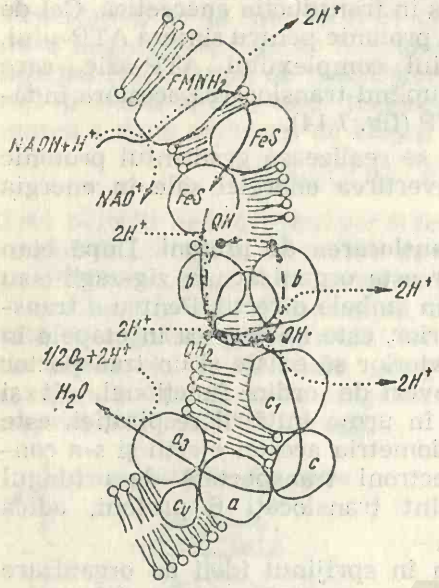



Fig. 7.15. Organizarea lanțului respirator în translocarea de protoni: *FMN* — flavinmononucleotid care, prin forma sa redusă ($FMNH_2$), transportă doi protoni și doi electroni; *FeS* = proteină sulfoferică (transportoare de electroni); *QH*· și $QH_2$ = forma semiquinonică și, respectiv, forma deplin redusă a coenzimei *Q* (ubiquinona); Cu = cupru; $a_3$ — citocromul $a_3$. Celelalte simboluri, ca în figura 7.12. Săgețile cu linie continuă reprezintă drumul electronilor, cele cu linie punctată drumul protonilor, iar linia întreruptă reprezintă așa-numitul ciclu *Q* (Schemă adaptată după Hinkle și McCarty).

Dovezi importante în sprijinul teoriei chemiosmotice provin și din domeniul sistemelor reconstituite (v. *Subcapit.* 7.1.2). Prin încorporarea diferitelor segmente ale lanțului respirator în liposomi, s-a pus în evidență formarea unui gradient de protoni, în urma inițierii procesului de respirație. Mai mult, prin încorporarea ATP-azei mitocondriale, împreună cu un anumit segment al lanțului respirator, s-a reușit chiar reconstituirea actului oxidării fosforilante. În toate cazurile, s-a pus în evidență necesitatea unei membrane intacte (vezicule închise) și a unei anumite asimetrii în dispunerea componenților pentru obținerea gradientului protonic și a fosforilării.

Pentru a înțelege mai bine semnificația acestui fapt, vom arăta modul în care este înmagazinată energia în gradientul protonic. Ca orice gradient electrochimic, acest gradient este alcătuit din doi termeni: unul chimic și unul electric. Pentru simplitate, vom scrie formula sub forma unei diferențe finite a potențialului electrochimic de protoni ($\Delta\mu_{H^+}$), așa cum se obișnuiește în teoria chemiosmotică:

$$\Delta\mu_{H^+} = \Delta\psi - Z\,\Delta pH, \qquad (7.3)$$

unde $\Delta\psi$ reprezintă componenta electrică (o diferență de potențial electric), $\Delta pH$ — componenta chimică (o diferență de *p*H), iar $Z = 2{,}3\,RT/F$ are valoarea de aproximativ 59 mV la temperatura de 25 °C (*R*, *T* și *F* au semnificațiile uzuale — vezi, de exemplu, ecuația 5.13).

Pentru menținerea unei valori ridicate a potențialului electrochimic, este absolut necesară existența unei membrane intacte, care să nu permită scurgerea necontrolată a protonilor sau a altor ioni. Efectul agenților decuplanți (decuplarea oxidării de fosforilare), conform teoriei chemiosmotice, este, deci, o consecință a disipării gradientului protonic (agenții decuplanți sînt protonofori — v. *7.1.3*), în lipsa căruia n-ar mai exista energia necesară fosforilării.

**ATP-aza mitocondrială. Sinteza ATP-ului ca proces vectorial.** Avînd realizat un gradient protonic, menținut de o membrană intactă, mai există o singură cerință esențială în vederea sintezei de ATP : prezența unui mecanism care să poată converti energia acestui gradient în energie chimică de legătură. Rolul acesta îl joacă *complexul ATP-azic mitocondrial.*

Descoperirea acestui complex și, mai ales, a așa-numitului factor $F_1$, care constituie partea catalitică a complexului, este legată în primul rînd de numele savantului american Efraim Racker și a colaboratorilor săi. Factorul $F_1$ se observă în anumite preparate electronomicroscopice sub forma unor „butoni" cu diametrul de circa 9 nm, atașați de membrană printr-un peduncul relativ scurt, care se continuă în membrană printr-un set de proteine ce constituie așa-numitul factor $F_0$. Din acest motiv, complexul ATP-azic mitocondrial este desemnat de obicei $F_1$—$F_0$. Chiar izolat din membrană, $F_1$ poate cataliza hidroliza ATP-ului. Este evident că, în aceste condiții, cînd lipsește gradientul protonic, $F_1$ nu poate funcționa în sensul sintezei de ATP. Pe de altă parte, componenta $F_0$, care rămîne în membrană după îndepărtarea lui $F_1$, nu prezintă activitate catalitică. Îndepărtarea lui $F_1$ face ca membrana să devină foarte permeabilă la protoni, fapt care poate fi remediat prin refixarea lui $F_1$. Aceste observații sînt considerate ca indicații ale faptului că $F_0$ reprezintă un fel de canal prin care protonii traversează membrana pentru a ajunge la centrul activ din $F_1$.

Mecanismul intim de cuplare al gradientului protonic cu sinteza de ATP nu este încă perfect elucidat. Există mai multe ipoteze asupra cărora nu insistăm însă. Vom încerca, în schimb, să prezentăm o justificare de ansamblu a posibilităților de cuplare a celor două reacții, în condițiile concrete din mitocondrie.

După cum s-a mai arătat, teoria chemiosmotică se bazează pe ideea unui metabolism vectorial, în care forța capabilă de a produce o reacție este determinată de orientarea spațială a unor factori fizico-chimici sau chimici, de-a lungul unui drum determinat de către organizarea fizică a sistemului. În cazul mitocondriei, este vorba despre direcționarea ejecției de protoni, datorită structurii și aranjamentului componenților lanțului respirator, precum și canalizarea acestor protoni în sens invers, prin componentul $F_0$ al complexului enzimatic. Datorită acestui fapt, centrul activ din $F_1$ se află în condiții cu totul speciale de desfășurare a unei reacții. Pentru a înțelege în principiu cum un gradient protonic poate afecta sinteza ATP, vom preciza că reacția catalizată de o ATP-ază :

$$ATP + H_2O \rightleftharpoons ADP + P_a \qquad (7.4)$$

devine, practic, reversibilă numai în prezența unui al treilea component participant la reacție, care poate împinge echilibrul spre stînga (în sensul sintezei de ATP). Acest al treilea factor este reprezentat tocmai de către gradientul protonic. Stoichiometria translocației de protoni prin ATP-aza

mitocondrială este $2\,H^+$ pentru fiecare moleculă de ATP sintetizată. Cu alte cuvinte, reacția de mai sus (7.4) ar trebui scrisă :

$$ATP + H_2O + 2\,H^+_{in} \rightleftharpoons ADP + P_a + 2\,H^+_{ex}, \qquad (7.5)$$

unde $H^+_{in}$ și $H^+_{ex}$ reprezintă concentrația de protoni la interior și, respectiv, la exterior. Considerînd constanta de echilibru (în care includem și concentrația apei, ca factor constant) :

$$K = \frac{[ADP]\,[P_a]}{[ATP]} \cdot \frac{[H^+]_{ex}}{[H^+]_{in}}, \qquad (7.6)$$

se poate vedea că echilibrul reacției (7.5) depinde de concentrația protonilor pe cele două fețe ale membranei și că o concentrație ridicată de $H^+$ în exterior va deplasa echilibrul acestei reacții în sensul sintezei de ATP. Considerînd valorile de echilibru („steady state")pentru ATP, ADP și $P_a$, se poate calcula că un raport ATP/ /ADP = 1 poate fi menținut printr-un $\Delta pH = 3{,}5$ unități, un $\Delta\psi = 210$ mV, sau orice combinație a celor două potențiale care să totalizeze 210 mV. Măsurătorile făcute în mitocondrie estimează valoarea potențialului electrochimic la circa 240 mV, adică suficient pentru sinteza de ATP. Există experimente care dovedesc că și din punct de vedere cinetic, adică al vitezei de formare și evoluției sale, un gradient electrochimic este compatibil cu rolul de intermediar primar în procesul fosforilării oxidative.

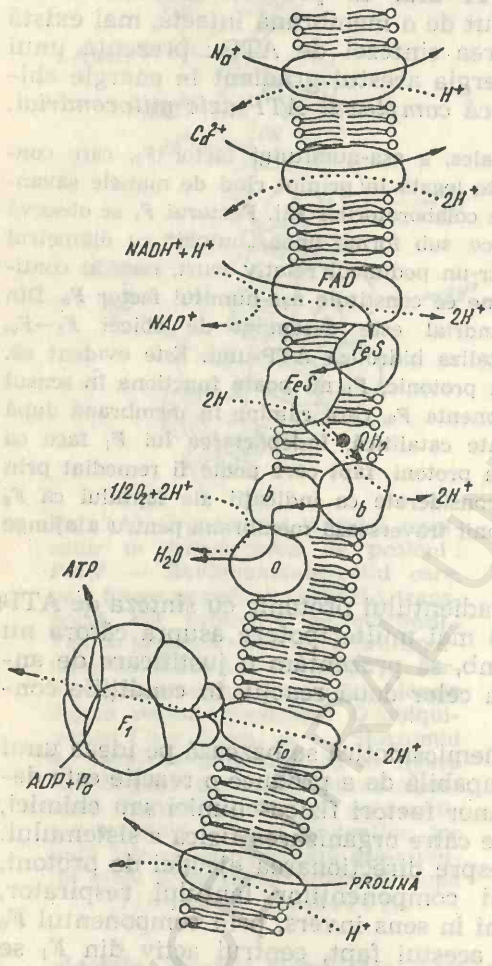



Fig. 7.16. Organizarea transportului de electroni și de protoni în membrana bacteriei *E. coli*. Sînt, de asemenea, figurate sistemul enzimatic $F$ —$F_0$ și cîteva sisteme de transport care folosesc direct energia gradientului protonic : *FAD* = flavinadenindinucleotid ; *o* — citocromul *-o*. Celelalte simboluri, ca în figura 7.15 (după Hinkle și McCarty).

**Transducția energiei în bacterii și cloroplaste.** Teoria chemiosmotică prezintă un mare grad de universalitate, ea aplicîndu-se deopotrivă mitocondriei, bacteriilor și cloroplastelor. Asemănarea mare care există între cele trei sisteme din punct de vedere funcțional, alături de asemănările structurale și biochimice, constituie argumente în favoarea originii lor comune.

Mai exact, se crede că atît mitocondria cît şi cloroplastul ar fi evoluat din bacterii parazite sau simbionte care, ulterior, au fost încorporate ca organite indispensabile.

*În bacteria Escherichia coli* lanţul respirator este ceva mai simplu decît în mitocondrie, dar orientarea lui în raport cu cele două feţe ale membranei este identică (fig. 7.16). Din punct de vedere funcţional, diferenţa majoră constă în faptul că pentru fiecare pereche de electroni ce trece prin lanţul respirator sînt eliminaţi doar 4 protoni (şi nu 6, ca la mitocondrie). Rezultatele experimentale indică lipsa ciclului Q. În schimb, ca şi în cazul mitocondriei, doi protoni sînt utilizaţi pentru sinteza unei molecule de ATP.

Rotaţia flagelului bacterian se pare că foloseşte direct energia gradientului protonic, cu alte cuvinte „rotorul" acestui flagel este o „turbină" protonică. La fel, transportul de $Na^+$ şi $Ca^{2+}$, ca şi transportul unor aminoacizi şi zaharuri, este cuplat cu transportul protonilor (fapt dovedit experimental).

*În cloroplaste*, lanţul transportor de electroni are unii componenţi asemănători cu cei întîlniţi la bacterii şi mitocondrii, dar mişcarea electronilor, ca şi pomparea protonilor, se face în sens invers (fig. 7.17), respectiv electronii trec de la apă către nicotinamidadenindinucleotidfosfat (NADP), iar protonii sînt pompaţi din afară către interior (stromă). Transportul de electroni se face, deci, în sens invers celui determinat de potenţialul oxidoreducător al reactanţilor, ceea ce înseamnă că necesită energie din afară. Această energie provine din fotonii absorbiţi în două puncte sau foto-

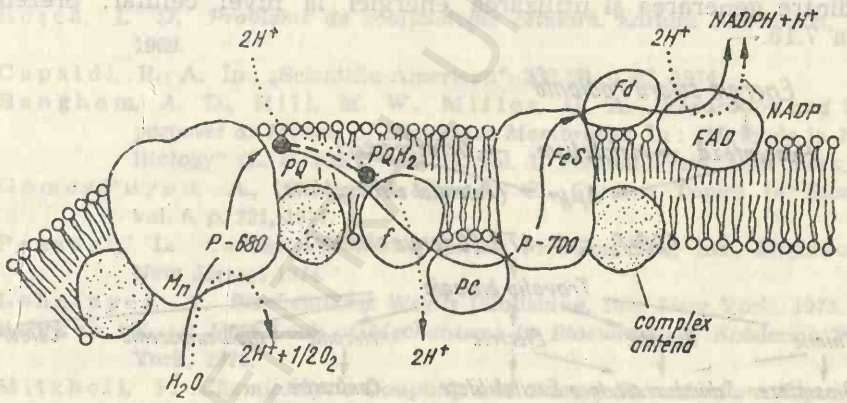



Fig. 7.17. Organizarea transportului de electroni şi protoni în membrana cloroplastului. Lanţul transportor începe cu apa, de unde o pereche de electroni sînt smulşi şi ridicaţi pe un nivel energetic superior („excitaţi"), datorită energiei absorbite de primul „complex-antenă", asociat unei clorofile „specializate" denumită P-680 (un pigment cu maximum de absorbţie la 680 nm). După ce traversează membrana, electronii revin la interior, odată cu doi protoni, prin reducerea plastoquinonei (PQ) la $PQH_2$. Protonii sînt eliberaţi la interior, în timp ce electronii sînt trecuţi citocromului *f* şi apoi, prin intermediul plastocianinei (PC), celui de al doilea fotocentru (P-700). Aici sînt impulsionaţi încă o dată, prin absorbţia unui foton, şi-şi continuă drumul, prin intermediul unei proteine sulfoferice (FeS), a ferredoxinei (Fd) şi flavinadenindinucleotidului (FAD), către nicotinamidadenindinucleotidfosfat (NADP), care este redus cu concursul unui proton din mediu (schema adaptată după Hinkle şi McCarty).

centre din lanț, prin aranjamente de molecule de clorofilă numite „complexe-antenă".

În ceea ce privește complexul ATP-azic din cloroplaste (desemnat $CF_1—F_0$), acesta este foarte asemănător din punct de vedere structural cu cel din mitocondrie, dar se pare că folosește 3 protoni pe molecula de ATP sintetizată.

Energia înmagazinată în ATP și produși reducători de tipul NADPH este folosită în procesul de *fotosinteză* propriu-zis. Acesta constă din reducerea, deci fixarea $CO_2$, cu formarea unor compuși organici hidrocarbonați (de exemplu, glucoza). Reacția globală a fotosintezei ar putea fi scrisă astfel :

$$6\,CO_2 + 6\,H_2O + h\nu \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,CO_2, \qquad (7.7)$$

unde $h\nu$ reprezintă energia luminoasă implicată în acest proces. Conform celor prezentate în figura 7.17, oxigenul eliberat ar trebui să provină din scindarea apei. Într-adevăr, prin marcări cu izotopi radioactivi, s-a demostrat că oxigenul eliberat în această reacție provine în totalitate din scindarea apei. În consecință, reacția (7.7) ar trebui scrisă corect :

$$6\,CO_2 + 12\,H_2O^* + h\nu \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\,H_2O + 6\,O_2^*. \qquad (7.8)$$

Pentru 1 mol de glucoză sintetizată energia liberă a sistemului crește cu 686 kcal, iar entropia scade cu 43,6 unități entropice (cal/mol·grad). Această energie poate fi utilizată pentru a produce travaliu biologic de natură foarte variată. Pentru a avea o privire de ansamblu asupra relației dintre generarea și utilizarea energiei la nivel celular, prezentăm figura 7.18.

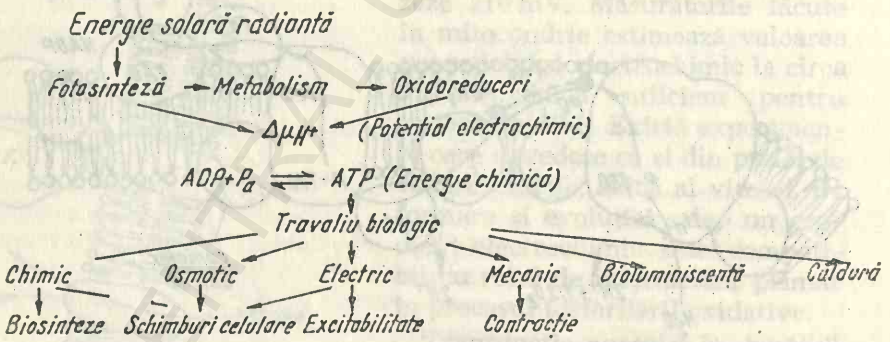



Fig. 7.18. Căile de generare și utilizare a energiei la nivel celular.

### 7.2.3.2. Alte ipoteze cu privire la conservarea energiei

Sub acest titlu vom prezenta, de fapt, două ipoteze cu privire la cuplarea energetică și care au un oarecare grad de popularitate, deși departe de cel al teoriei chemiosmotice.

**Ipoteza chimică**, clasică, susține că energia eliberată în urma oxidării aerobe ar fi conservată în niște compuși chimici intermediari, care o cedează apoi ADP-ului. Cu toate completările aduse în ultima vreme, această

ipoteză poate foarte greu să concorde cu faptele experimentale și nu poate explica necesitatea integrității membranei pentru cuplarea oxidării cu fosforilarea. Intermediarii postulați nu au fost niciodată descoperiți (izolați).

**Ipoteza conformațională** consideră că energia eliberată din oxidare este înmagazinată sub forma unor schimbări conformaționale ale proteinelor din membrana mitocondriei, de unde este cedată ulterior ADP-ului. Ipoteza a fost formulată printr-un fel de analogie inversă cu ceea ce se întîmplă în celula musculară, în urma unor observații cu privire la existența unor modificări ale formei membranei interne, dependente de energie. O variantă mai nouă a acestei ipoteze consideră că, de fapt, fosforilarea ADP-ului necesită foarte puțină energie din momentul în care participanții la reacție s-au întîlnit și că etapa care necesită energie este eliberarea ATP-ului din locul unde a fost sintetizat și unde se presupune că este puternic fixat. Este evident că nu se poate nega existența unor modificări conformaționale în mitocondrie, dar problema este dacă aceste schimbări sînt primare sau secundare și, în cazul în care sînt primare, care este mecanismul prin care energia este înmagazinată în ele și apoi cedată ADP-ului.

**BIBLIOGRAFIE**


Roșca, I. D. *Probleme de zoofiziologie celulară.* Editura Academiei, București, 1969.

Capaldi, R. A. În: „Scientific American", 230 (3), p. 27, 1974.

Bangham, A. D., Hill, M. W., Miller, G. A. *Preparation and Use of Liposomes as Models of Biological Membranes.* În: „Methods in Membrane Biology" (E. D. Korn, editor), vol. 1. Plenum Press, New York, 1974.

Gómez-Puyou, A., Gómez-Lojero, C. *Current Topics in Bioenergetics,* vol. 6, p. 221, 1977.

Peusner, L. *Concepts in Bioenergetics.* Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1974.

Lehninger, A. *Biochemistry.* Worth Publishing, Inc., New York, 1975.

Racker, E. *A New Look at Mechanisms in Bioenergetics.* Academic Press, New York, 1976.

Mitchell, P. *Chemiosmotic Coupling and Energy Transduction.* Glynn Research Ltd., Bodmin, 1968.

Hinkle, P. C., McCarty, R. E. În: „Scientific American" 238 (3), *p.* 104, 1978.

Tarba, C. *Biofizică* (curs litografiat). Universitatea „Babeș-Bolyai", Cluj-Napoca, 1979.

# 8

# FENOMENE BIOELECTRICE

Prezența atît în citoplasma oricărei celule, cît și în fluidele extracelulare a numeroase tipuri de atomi și molecule ionizate, deci încărcate electric și faptul că activitatea metabolică menține diferențe de concentrații ale acestor ioni, fac ca fenomenele electrice să fie proprii tuturor celulelor animale și vegetale.

## 8.1. POTENȚIALUL DE REPAUS AL CELULELOR

Printre caracteristicile de bază ale oricărei celule vii este și existența unei diferențe de potențial electric între fața externă și cea internă a membranei celulare. Deoarece atît citoplasma, cît și fluidele interstițiale sînt medii cu conductibilitate electrică ridicată, în interiorul lor potențialul electric este același în orice punct, astfel încît diferența de potențial dintre fețele membranei reprezintă variația de potențial între interiorul celulei și mediul extern. Acesta este *potențialul de repaus celular (PR)*, numit astfel prin opoziție cu variațiile de potențial din timpul activității celulelor excitabile.

Un moment considerat crucial pentru evoluția biofizicii celulelor excitabile l-a reprezentat dezvoltarea tehnicii microelectrozilor de sticlă. Aceștia sînt micropipete obținute prin tragere la cald, astfel încît vîrful să nu fie mai gros de 0,5 μm. Străpungerea membranei celulare de către vîrful micropipetei nu produce vreo lezare considerabilă, iar contactul de scurtcircuitare între citoplasmă și fluidul extracelular nu are loc, deoarece membrana se strînge în jurul vîrfului de sticlă (datorită tensiunii interfaciale).

Atunci cînd un microelectrod străpunge membrana celulară intrînd în citoplasmă, între el și un electrod nepolarizabil (de exemplu, un electrod de calomel), plasat în soluția externă, apare o diferență de potențial, in-

teriorul celulei fiind întotdeauna negativ față de exterior (fig. 8.1). Acesta este potențialul de repaus (*PR*), care are valori bine determinate pentru fiecare celulă, variind între —50 și —100 mV.

Între *PR* și metabolismul celular există o legătură evidentă, întrucît lipsa de oxigen, inhibitorii metabolici generali, ca și scăderea temperaturii produc reducerea valorii *PR* pînă la dispariție totală. Această legătură se realizează prin intermediul menținerii de către metabolism a compoziției ionice diferite a citoplasmei față de lichidul extracelular, potențialul de repaus fiind tocmai expresia electrică a acestei asimetrii de distribuție ionică.

Atunci cînd se face analiza chimică a compoziției ionice a citoplasmei și a lichidului interstițial, se constată că potasiul este de aproximativ 20 ori mai concentrat în interior, iar sodiul și clorul de 10 ori mai concentrate în exterior.

Pentru ilustrare, în tabelul 8.1 sînt date valorile concentrațiilor ionice în trei tipuri de celule.

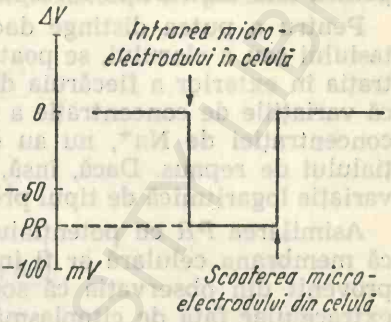



Fig. 8.1. Diferența de potențial între un electrod de referință plasat în soluția externă și un microelectrod la intrarea și ieșirea din celulă: *PR* — potențialul de repaus celular.

*Tabelul 8.1*

**Concentrațiile principalilor ioni în citoplasma a trei tipuri de celule și în fluidele lor extracelulare, împreună cu potențialele de echilibru electrochimic ale acestor ioni ($E_{Na}$, $E_K$ și $E_{Cl}$) și cu potențialele de repaus celulare.**

| Tipul de celulă | Tipul de ioni | Concentrațiile (mM) | | $E_{Na}$, $E_K$, $E_{Cl}$ (mV) | Potențialul de repaus celular (mV) |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Intracelulare | Extracelulare | | |
| Axon gigant de calmar | $Na^+$ | 45 | 440 | +57 | |
| | $K^+$ | 410 | 22 | —74 | —61 |
| | $Cl^-$ | 40 | 560 | —66 | |
| Fibră musculară de broască | $Na^+$ | 13 | 110 | +55 | |
| | $K^+$ | 138 | 2,5 | —101 | —99 |
| | $Cl^-$ | 3 | 90 | —86 | |
| Eritrocit de om | $Na^+$ | 19 | 155 | +53 | |
| | $K^+$ | 136 | 5 | —83 | —10 |
| | $Cl^-$ | 78 | 112 | —9 | |

S-a considerat că *PR* ar reprezenta potențialul de echilibru electrochimic între citoplasmă și exterior al $K^+$, deoarece membrana celulară ar fi permeabilă selectiv numai pentru acest ion. Valoarea potențialului de echilibru electrochimic al potasiului este dată de *relația lui Nernst*, în funcție de concentrațiile în exterior și interior, $C_K^e$ și $C_K^i$ (v. *5.1.2*):

$$E_K = \frac{RT}{F} \ln \left( \frac{C_K^e}{C_K^i} \right). \qquad (8.1)$$

Calculînd cu formula lui Nernst potențialele de echilibru electrochimic atît pentru $K^+$ cît și pentru $Na^+$ și $Cl^-$, se obțin, în cazul axonului gigant, valorile indicate în tabelul 8.1. Comparînd aceste valori calculate cu *PR* măsurat, se deduce că, în timp ce distribuția ionică a sodiului corespunde unui potențial de echilibru total diferit de *PR*, atît pentru potasiu cît și pentru clor distribuția corespunde aproximativ condiției de echilibru.

Pentru a putea distinge dacă *PR* provine din distribuția ionică a potasiului sau a clorului, se poate urmări dependența valorii *PR* de concentrația în exterior a fiecăruia din acești ioni. Acest gen de studii au arătat că variațiile de concentrație a $Cl^-$ în soluția externă, la fel ca și variațiile concentrației de $Na^+$, nu au decît o influență neglijabilă asupra potențialului de repaus. Dacă, însă, se schimbă concentrația $K^+$, se constată o variație logaritmică de tipul prezis de relația lui Nernst.

Asimilarea *PR* cu potențialul de echilibru al $K^+$ se bazează pe ipoteza că membrana celulară ar fi impermeabilă pentru $Na^+$. Această ipoteză a provenit din observația că sodiul rămîne mult mai abundent în spațiul extracelular față de citoplasmă, deși atît gradientul de concentrație cît și cel de potențial electric tind să îl introducă în celule. Cercetările lui R. D. Keynes și A. L. Hodgkin de la începutul anilor 1950, referitoare la fluxurile de ioni radioactivi prin membrana axonală, au arătat însă că sodiul intră în mod pasiv din exterior în axoplasmă. Concentrația $Na^+$ rămîne totuși constantă, datorită unui mecanism de scoatere afară din celulă, împotriva gradientului de potențial electric și de concentrație ; pentru acest transport este necesară energia metabolică. De aici rezultă concluzia foarte importantă că membranele celulare sînt permeabile și pentru sodiu, iar *starea de repaus* a celulelor nu corespunde unei anumite distribuții de echilibru a ionilor ci este o *stare staționară*. Prin membrană au loc în permanență fluxuri ionice pasive în sensul gradienților de potențial electrochimic, dar care sînt compensate de fluxuri în sens contrar desfășurate cu consum de energie metabolică (v. 7.1.4).

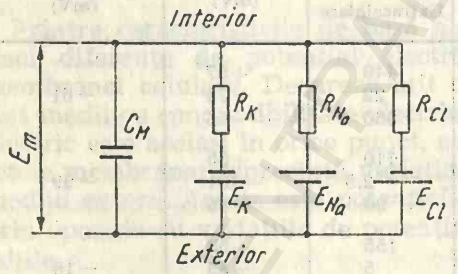



Fig. 8.2. Circuitul electric cu ajutorul căruia pot fi descrise fluxurile ionice prin membrana celulară și potențialul de repaus celular.

Potențialul electric transmembranar, curenții electrici vehiculați de fluxurile ionice și proprietățile de permeabilitate ale membranei pot fi descrise (într-un mod eficient și adecvat în special pentru membranele excitabile), reprezentînd circuitul electric echivalent membranei. În figura 8.2 este redată schema echivalentă a unei membrane celulare neexcitabile. Capacitatea electrică ($C_M$) a membranei exprimă proprietățile dielectrice ale acesteia, deci calitatea ei de a menține o încărcare electrică de semne contrare pe cele două fețe. Pentru toate membranele celulare, capacitatea este în jur de 1 $\mu F/cm^2$.

Bateriile de tensiuni $E_K$, $E_{Na}$ și $E_{Cl}$ reprezintă potențialele de echilibru electrochimic ale fiecăruia din acești ioni, în serie cu rezistențele $R_K$, $R_{Na}$ și $R_{Cl}$, proprii canalelor specifice pentru fiecare ion.

Aplicînd *legile lui Ohm* circuitului din figura 8.2, se găsește în mod simplu valoarea diferenței de potențial suportată de capacitatea $C_M$ între cele două fețe ale membranei :

$$E_m = R_t \cdot I_t.$$

Rezistența totală $R_t$, echivalentă cu cele trei rezistențe în paralel, este dată de :

$$\frac{1}{R_t} = \frac{1}{R_K} + \frac{1}{R_{Na}} + \frac{1}{R_{Cl}},$$

iar curentul total este :

$$I_t = \frac{E_K}{R_K} + \frac{E_{Na}}{R_{Na}} + \frac{E_{Cl}}{R_{Cl}},$$

deci :

$$E_m = \frac{(E_K/R_K)+(E_{Na}/R_{Na})+(E_{Cl}/R_{Cl})}{1/R_K+1/R_{Na}+1/R_{Cl}}.$$

Dacă în loc de rezistențele $R_i$ se lucrează cu conductanțele $g_i$ ale membranei pentru fiecare tip de ion, ținînd seama că $g_i = \frac{1}{R_i}$, relația de mai sus devine :

$$E_m = \frac{g_K E_K + g_{Na} E_{Na} + g_{Cl} E_{Cl}}{g_K + g_{Na} + g_{Cl}}. \qquad (8.2)$$

Această formulă redă mai corect decît relația lui Nernst (8.1) valorile experimentale ale potențialului celular de repaus. Ea arată că potențialul de membrană $E_m$ tinde să devină egal cu potențialul de echilibru electrochimic $E_i$ al acelui ion pentru care conductanța membranei este mult mai mare decît pentru ceilalți.

## 8.2. BIOFIZICA PROPAGĂRII INFLUXULUI NERVOS

La toate metazoarele, sistemul nervos periferic și central constituie o amplă rețea de comunicație în cadrul organismului, rețea în care, pentru transmiterea semnalelor, este utilizat un fenomen de natură bioelectrică : *influxul* (sau *impulsul*) *nervos*.

Impulsul nervos reprezintă variația tranzitorie și propagabilă a potențialului de membrană al fibrelor nervoase, adică *potențialul de acțiune* al acestora, produs de un stimul. Pe fondul iritabilității generale a materiei vii, în cursul evoluției au apărut celulele excitabile capabile să răspundă la stimuli externi printr-o degajare bruscă de energie sub forma unei variații tranzitorii a potențialului de membrană, de la valoarea negativă de repaus la o valoare pozitivă, această variație propagîndu-se pe toată suprafața membranei celulare. Reprezentant tipic al celulelor excitabile este neuronul. În cazul țesuturilor formate din celule excitabile (de exemplu, un nerv), un stimul dă naștere unei variații de potențial electric ce rezultă din compunerea potențialelor de acțiune celulare.

Stimulii (excitanții) pot fi de diferite naturi : mecanici, termici, chimici, luminoși, dar cei mai adecvați pentru experiențe sînt stimulii electrici, da-

torită posibilității de a li se stabili în mod riguros, comod și perfect reproductibil toate caracteristicile.

Atunci cînd un stimul acționează asupra dendritelor sau a somei neuronale, se produce o variație locală a potențialului transmembranar, amplitudinea acestei variații de potențial fiind proporțională — direct sau logaritmic — cu mărimea stimulului care a produs-o. Așa este situația în cazul potențialelor induse de mediatorii chimici în membranele postsinaptice sau a potențialelor gradate care apar în neuronii senzitivi (fig. 8.3).

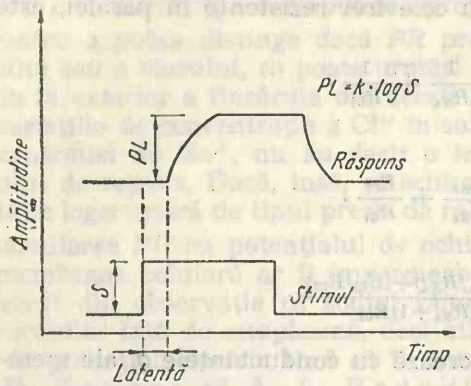



Fig. 8.3. Caracteristicile unei variații locale a potențialului de membrană, indusă de un sistem electric rectangular.

*Potențialele locale* se popagă pe suprafața membranelor excitabile datorită proprietăților electrice pasive ale acestor membrane, dar propagarea se face decremental [1], amplitudinea scăzînd în mod exponențial cu distanța față de locul de origine al potențialului.

Și în cazul axonilor, de exemplu al unui axon gigant [2], dacă se produc depolarizări mici, adică reduceri ale potențialului transmembranar cu pînă la 15 mV față de potențialul de repaus, acestea se atenuează rapid în timp și se propagă decremental. Dacă, însă, depolarizarea depășește o anumită valoare critică, de „prag", atunci se declanșează *potențialul de vîrf* („spike") al fibrei nervoase, care este un răspuns activ al acesteia la stimulul care l-a produs.

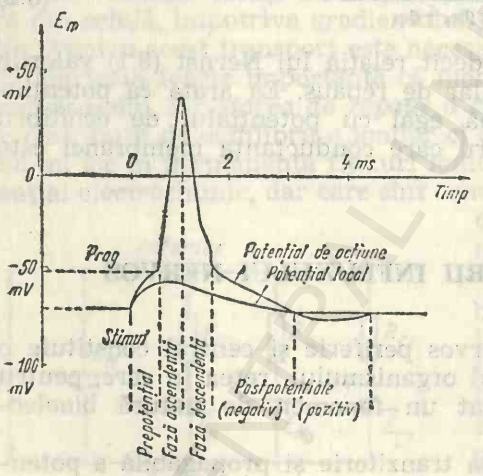



Fig. 8.4. Comparație între un potențial local și un potențial de acțiune. Sînt reprezentate toate fazele unui potențial de acțiune tipic, de exemplu în axonul gigant de la cefalopode.

În figura 8.4. sînt schematizate un *potențial local*, produs de o depolarizare subliminară și un *potențial de acțiune* complet al unei fibre nervoase. Se observă că prima fază a potențialului de acțiune este tot un potențial de tip local, gradat, numit *prepotențial*. Potențialul de vîrf care survine după acesta este o variație amplă și rapidă a potențialului transmembranar de la valoarea negativă a interiorului fibrei față de exterior, pînă la o valoare pozitivă de cîteva zeci de

[1] Propagarea *cu decrement* a variațiilor de potențial datorită proprietăților electrice pasive ale axonilor se mai numește și *propagare electrotonică*.

milivolți. Potențialul de vîrf prezintă două caracteristici distinctive de bază : 1) decurge după legea *„totul sau nimic"*, adică orice stimul care depășește valoarea de prag dă naștere aceluiași răspuns, amplitudinea potențialului de vîrf fiind o caracteristică a respectivei fibre nervoase și nedepinzînd de mărimea stimulului, dacă acesta depășește valoarea de prag (care este și ea o caracteristică a fibrei) ; 2) propagarea de-a lungul axonului este fără decrement, deoarece ea decurge în mod regenerativ, în fiecare loc de pe fibra nemielinizată (iar în cele mielinizate în fiecare nod Ranvier) declanșîndu-se răspunsul activ al membranei excitabile.

Aceste două caracteristici permit propagarea eficientă la distanțe mari a potențialului de acțiune („influxul" sau „impulsul" nervos) în axoni și ele au făcut ca influxul nervos să fie uneori comparat cu propagarea scînteii într-un fitil cu praf de pușcă.

În diferite faze ale potențialului de acțiune, caracteristicile funcționale ale axonului sînt în mod evident modificate față de starea de repaus, așa încît și proprietățile de excitabilitate sînt diferite. Se constată, astfel, că imediat după declanșarea potențialului de vîrf fibra este total inexcitabilă, aceasta fiind *perioada refractară absolută* ce coincide cu faza ascendentă și începutul fazei descendente a potențialului de vîrf. Urmează apoi o *perioadă refractară relativă*, în care excitabilitatea este mult redusă, dar se poate totuși produce un răspuns al fibrei.

Un fenomen foarte important este *„acomodarea"*, adică creșterea pragului de excitabilitate al fibrelor nervoase atunci cînd asupra lor acționează un stimul de durată. Această creștere poate fi rapidă, ca în cazul fibrelor din nervii motori sau lentă, așa cum este la unele fibre senzitive. Pe baza creșterii pragului de excitabilitate față de stimuli prelungiți, se poate înțelege modul în care astfel de stimuli dau naștere la o succesiune de potențiale de vîrf (fig. 8.5).

Atît timp cît valoarea depolarizării locale produse de către stimulul prelungit rămîne superioară pragului de excitabilitate, după perioada refractară a unui prim potențial de vîrf se va produce un al doilea etc., astfel încît la stimulul continuu fibra prezintă un *răspuns repetitiv* (sau *oscilatoriu*).

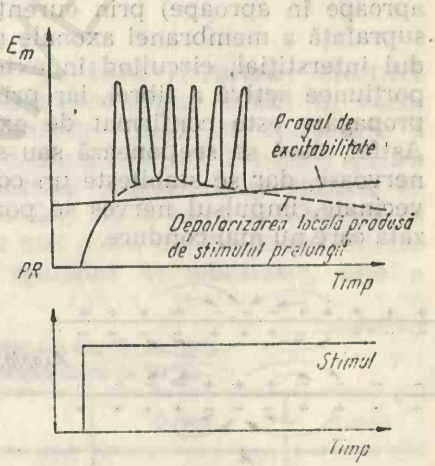



Fig. 8.5. Inducerea de către un stimul prelungit a unui răspuns oscilatoriu, succesiunea de potențiale de acțiune durînd atîta timp cît depolarizarea locală este superioară pragului de excitabilitate.

Așa cum s-a menționat anterior, pe dendrite și pe soma neuronală iau naștere potențiale locale care se propagă cu decrement pînă la gîtul sau conul axonal. Amplitudinea totală rezultată în acest loc din însumarea

[2] Cefalopodele (de exemplu, genurile *Loligo* și *Dosidicus*) posedă fibre nervoase al căror diametru este în jur de 500 μm, ajungînd chiar la 1 mm. Pe acești „axoni giganți" se fac numeroase cercetări asupra influxului nervos.

potențialelor locale provenite din diferite puncte constituie stimulul care declanșează în axon un răspuns repetitiv, adică o succesiune de potențiale de acțiune de aceeași amplitudine. În aceasta constă procesul de codificare în frecvență a amplitudinii stimulilor, etapă esențială a transmiterii informației prin canalul neuronal.

### 8.2.1. PROPAGAREA RECURENTĂ ȘI SALTATORIE ÎN FIBRELE NERVOASE

Asemenea oricărei celule, și într-o fibră nervoasă în stare de repaus distribuția de sarcini electrice este astfel încît interiorul (axoplasma) este negativ față de exterior (lichidul interstițial). Atunci cînd se produce potențialul de acțiune are loc o modificare, iar în cursul potențialului de vîrf chiar o inversare de polaritate, exteriorul devenind negativ față de interior. Datorită acestei schimbări de polaritate, între zona activă și zonele învecinate ale fibrei iau naștere curenți electrici locali (fig. 8.6, *A*) care depolarizează membrana axonală în porțiunile adiacente zonei active, acționînd ca stimul de declanșare a excitației și în aceste zone. În fibrele nervoase nemielinizate impulsul se propagă, deci, în mod *recurent* (din aproape în aproape) prin curenți electrici locali ce traversează întreaga suprafață a membranei axonale și se închid prin axoplasmă și prin lichidul interstițial, circulînd în exterior dinspre regiunile în repaus către porțiunea activă a fibrei, iar prin axoplasmă în sens invers. Acest tip de propagare este confirmat de experiențe foarte simple dar concludente. Astfel, dacă se secționează sau se narcotizează o porțiune a unei fibre nervoase, dar se stabilește un contact metalic între porțiunile intacte învecinate, impulsul nervos se poate propaga între acestea, peste zona lezată care nu mai conduce.

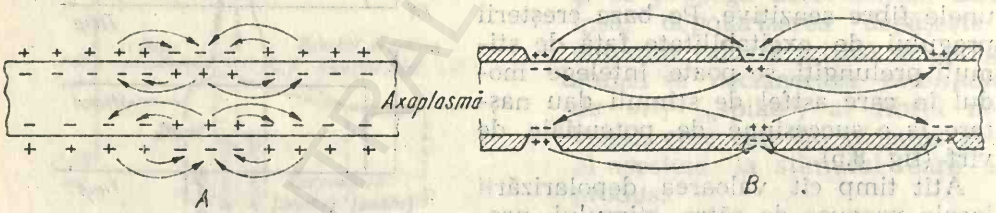



Fig. 8.6. Propagarea excitației prin curenții locali, în mod recurent într-un axon nemielinizat (*A*) și saltatoriu (între nodurile Ranvier) într-un axon mielinizat (*B*).

Fibrele nervoase mielinizate au o structură net diferită față de cele nemielinizate, suprafața lor fiind acoperită cu o teacă de mielină groasă de aproximativ 2 μm (diametrul propriu-zis al fibrei este de ordinul a 10 μm), care izolează axonul de lichidul extracelular, contactul fiind numai la nodurile (sau strangulațiile) Ranvier unde teaca de mielină se întrerupe. Teaca de mielină constă din aproximativ 200 de membrane celulare suprapuse, provenind din răsucirea unei celule Schwann în jurul axonului. Datorită compoziției sale lipidice, mielina acționează ca un izolator electric, așa încît prin toată porțiunea acoperită cu mielină (internodul), lungă de 1—2 mm, curenții nu pot traversa membrana axonală, ei putînd trece numai prin zona nodului ce are o lărgime de pînă la 1 μm.

În cazul fibrelor mielinizate, curenții locali nu mai traversează toată suprafața membranei axonale ci „sar" de la un nod Ranvier la altul, închizîndu-se prin axoplasmă și lichidul extracelular (fig. 8.6, *B*). Dintre cele mai evidente dovezi ale conducerii saltatorii, menționăm faptul că narcotizarea internodului nu blochează propagarea impulsului, în timp ce narcotizarea nodului îl oprește.

Referitor la sensul de propagare al excitației se observă că atît în axonii nemielinizați, cît și în cei mielinizați conducerea impulsului are loc bidirecțional, atît ortodromic (de la dendrite către butonii sinaptici ai axonului), cît și antidromic. Unidirecționalitatea fiziologică de propagare exclusiv ortodromică este asigurată de sinapse, care funcționează ca „valve" ce impun sensul unic de circulație a influxului nervos.

Între momentul aplicării unui stimul pe fibra nervoasă și acela al apariției potențialului de acțiune la o anumită distanță față de locul stimulării există un interval de latență proporțional cu distanța dintre cele două puncte. În mod evident, *latența* (*L*) reprezintă timpul necesar pentru propagarea excitației pe distanța (*l*) dintre locul de stimulare și cel de culegere, pe baza cunoașterii acestor mărimi putîndu-se calcula viteza de propagare :

$$\theta = \frac{l}{L}.$$

În mod experimental s-a constatat, iar pe baza circuitelor electrice echivalente ale membranei axonale se poate demonstra, că atît în cazul fibrelor nemielinizate, cît și al celor mielinizate viteza de conducere a impulsului variază direct proporțional cu diametrul fibrei. Pentru a ilustra ordinul de mărime, în tabelul 8.2 sînt incluse diametrele și vitezele de conducere pentru diferite fibre nervoase. Din acest tabel se observă că viteza de propagare a excitației este mult mai mare în fibrele mielinizate față de cele nemielinizate. Mielinizarea, specifică vertebratelor, este o

*Tabelul 8.2*

**Viteza de conducere a impulsului nervos (θ) în fibre de diferite diametre (D) la temperatura de 20 °C.**

| Animalul | Tipul de fibră | D (μm) | θ (m/s) |
|---|---|---|---|
| Pisică | Nemielinizată | 0,5 | 0,53 |
| Iepure | Nemielinizată | 1,2 | 0,51 |
| Pisică | Mielinizată | 7 | 22,60 |
| *Xenopus laevis* | Mielinizată | 12 | 21,60 |
| *Xenopus laevis* | Mielinizată | 30 | 67,70 |

„achiziție" evolutivă de maximă importanță, ea permițînd transmiterea rapidă a unei mari cantități de informație în condițiile utilizării unei cantități reduse de țesut nervos pentru conducerea impulsului (majoritatea țesutului nervos fiind în centrii unde are loc prelucrarea informației). Astfel, pentru aceeași viteză de conducere, o fibră mielinizată de broască are un diametru de 60 de ori mai mic decît al axonului gigant de calmar, avînd pentru aceeași lungime un volum de 3 600 ori mai mic.

Viteza de conducere a impulsului nervos este puternic afectată de temperatură, triplîndu-se pentru o creștere a temperaturii cu 10°.

Din punct de vedere al tipului de răspuns, între fibra nervoasă și trunchiul nervos există o deosebire esențială : în timp ce potențialul de vîrf al unei fibre este independent de valoarea stimulului, dacă acesta depășește pragul de excitație (legea „totul sau nimic") răspunsul electric al trunchiului nervos este *gradat,* fiind un *potențial de acțiune compus,* rezultat din însumarea potențialelor de acțiune celulare ale tuturor fibrelor pentru care a fost depășit pragul de excitație.

Fiind alcătuiți din fibre în care viteza de conducere a excitației este variabilă (în funcție de diametru), nervii prezintă o anumită dispersie spațială a potențialelor de acțiune compuse, prin comparație cu potențialele de acțiune individuale ale fiecărei fibre. Dispersia devine cu atît mai evidentă, cu cît înregistrarea este la o distanță mai mare față de locul de stimulare a nervului. În figura 8.7 este arătat aspectul nervogramei înregistrate de pe un nerv sciatic la diferite distanțe de locul de stimulare. În apropierea punctului de stimulare apare o singură undă care, în realitate, constă din două componente ($\alpha$ și $\beta$) care se disting cu atît mai bine, cu cît culegerea se face la o distanță mai mare (fig. 8.7).

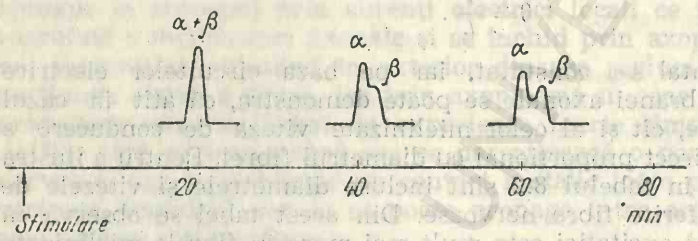



Fig. 8.7. Aspectul potențialului de acțiune compus dat de fibrele de tip *A* din nervul sciatic de broască. Pe abscisă este indicată distanța dintre locul de stimulare și cel de culegere.

Caracterul gradat al răspunsului electric al trunchiului nervos face ca în cazul acestuia să nu mai aibă semnificație noțiunea de „prag de excitație", ci să se vorbească despre *stimuli liminari,* capabili să producă cel mai mic răspuns sesizabil al nervului. În cazul pulsurilor de curent „în

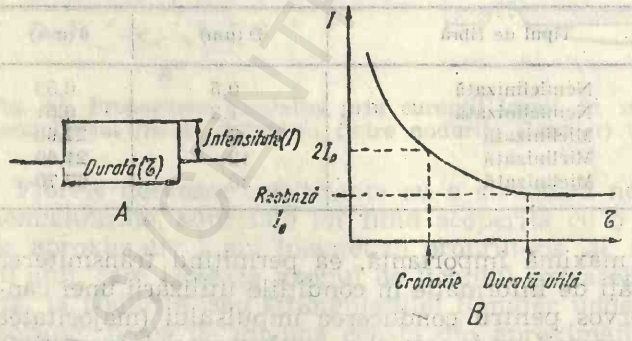



Fig. 8.8. *A* — Stimul electric „în treaptă"; *B* — dependența între intensitatea și durata stimulilor liminari și parametrii excitabilității nervului.

treaptă" (fig. 8.8, *A*) G. Weiss a stabilit o relație aproximativă între intensitatea ($I$) și durata ($\tau$) stimulilor care produc răspunsul minim. Această relație este de tip hiperbolic (fig. 8.8, *B*) :

$$I = I_0 + q/\tau,$$

$I_0$ și $q$ fiind niște constante.

Propagarea cu decrement a semnalelor electrice datorită numai proprietăților electrice pasive ale oricăror membrane celulare este completată, în cazul celulelor excitabile, de un mecanism activ prin care orice semnal electric care depășește pragul de excitare declanșează o variație specifică a permeabilităților ionice ale membranei, făcînd ca în fiecare punct al membranei variația de potențial transmembranar să atingă valoarea de vîrf a potențialului de acțiune. Rezultatul este o propagare regenerativă a semnalului electric, fără decrement cu distanța.

Natura procesului regenerativ prin care o anumită depolarizare a membranei este amplificată a fost înțeleasă (în linii mari) după ce A. L. Hodgkin și A. F. Huxley au arătat (în 1952) modul în care depinde conductanța pentru sodiu a membranei de potențialul transmembranar. La valoarea normală a potențialului de repaus, această conductanță este foarte scăzută, dar ea crește cînd se produce o depolarizare. Ca urmare, ionii de $Na^+$ intră din exterior în axoplasmă accentuînd depolarizarea, deoarece fac ca interiorul fibrei să fie mai puțin negativ față de exterior. Accentuarea depolarizării mărește în continuare conductanța pentru sodiu, procesul tinzînd să continue pînă cînd interiorul fibrei ar deveni încărcat pozitiv, pînă la o valoare a potențialului care să anuleze efectul gradientului de concentrație, adică pînă la valoarea potențialului de echilibru electrochimic al sodiului (în jur de +50 mV în interior, față de exterior). În realitate, această valoare nu este atinsă deoarece creșterea conductanței pentru sodiu este un proces tranzitoriu scurt, urmat de o creștere a conductanței membranei pentru potasiu, ceea ce face ca acesta să iasă din axoplasmă în exterior, compensînd din punct de vedere electric intrarea sodiului și readucînd sistemul în condițiile de repaus.

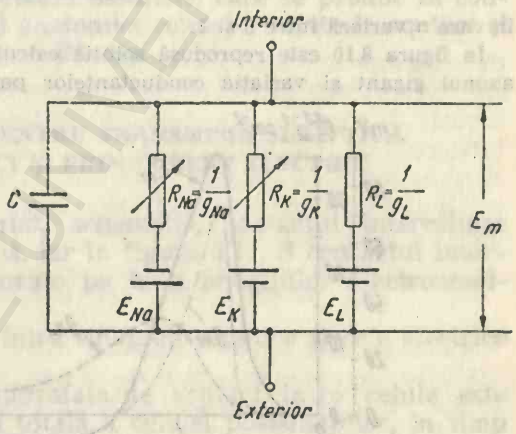



Fig. 8.9. Circuitul electric echivalent al membranei axonului gigant: $E_m$ este potențialul transmembranar; $C$ — capacitatea membranei, cu $R$ sînt notate rezistențele parțiale, cu $g$ conductanțele ionice parțiale ale membranei, iar cu $E$ — potențialele de echilibru electrochimic. Indicii Na, K și L desemnează ionii de sodiu, potasiu și, respectiv, toți ceilalți ioni împreună („scurgerile"). Spre deosebire de conductanțele pentru sodiu și potasiu, conductanța de scurgeri a membranei nu variază în funcție de $E_m$.

Hodgkin și Huxley au elaborat o descriere detaliată a variației conductanțelor ionice ale membranei în timpul excitației și, implicit, a curenților ionici și potențialelor de membrană, reprezentînd membrana axonului gigant prin circuitul echivalent din figura 8.9. Acest circuit se deosebește de cel prezentat în figura 8.2 numai prin faptul că $g_{Na}$ și $g_K$

(conductanțele membranei pentru sodiu și potasiu) nu sînt constante, ci variază în funcție de valoarea instantanee a potențialului de membrană.

Ținînd seama de faptul că propagarea excitației nervoase este asociată cu propagarea unor curenți electrici datorați în special ionilor K+ și Na+, caracterizarea fenomenologică a impulsului nervos constă din găsirea cineticii acestor fluxuri ionice, adică a variației conductanțelor membranei în cursul potențialului de acțiune. Din analiza rezultatelor experimentale, Hodgkin și Huxley au ajuns la concluzia că evoluția în timp a conductanței pentru sodiu a membranei poate fi exprimată sub forma :

$$g_{Na}(t) = g^{\circ}_{Na} \cdot m^3(t) \cdot h(t), \tag{8.3}$$

unde $m(t)$ și $h(t)$ sînt niște parametri adimensionali ce variază între 0 și 1, iar $g^{\circ}_{Na}$ reprezintă conductanța maximă pentru sodiu.

Această expresie a conductanței a fost aleasă astfel pentru a satisface cît mai bine datele experimentale care indică un proces rapid de activare și unul mai lent de inactivare a conductanței.

Dependența de timp a conductanței pentru potasiu este exprimată de relația :

$$g_K(t) = g^{\circ}_K \cdot n^4(t), \tag{8.4}$$

în care $n$ variază între 0 și 1.

În figura 8.10 este reprodusă soluția calculată a unui impuls nervos propagat în axonul gigant și variația conductanțelor parțiale ale membranei pentru sodiu și

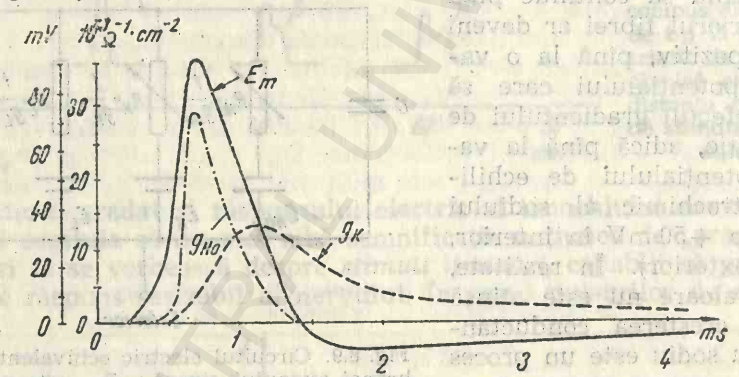



Fig. 8.10. Soluțiile ecuațiilor Hodgkin-Huxley pentru variațiile potențialului transmembranar și a conductanțelor membranei axonului gigant de calmar în cursul unui potențial de acțiune.

potasiu. Este de remarcat faptul că soluția calculată pentru un potențial de acțiune propagat coincide cu potențialele de acțiune înregistrate experimental, ceea ce atestă clar valoarea teoriei lui Hodgkin și Huxley.

## 8.3. MECANISMELE BIOFIZICE ALE TRANSMISIEI SINAPTICE

Rolul sistemului nervos de a vehicula în mod direcționat, între diferitele teritorii ale unui organism, informația necesară funcționării coordonate a acestuia impune transmiterea semnalelor (impulsurilor nervoase) nu

numai la mare distanță, ci și de la o celulă la alta. Joncțiunile dintre neuroni, ca și ale neuronilor cu celulele efectoare (musculare și glandulare) se fac prin niște formațiuni celulare complexe specializate pentru rolul de „valve" care să regleze circulația semnalelor. Toate joncțiunile de acest tip pot fi numite *sinapse;* în mod curent, însă, acest termen desemnează numai contactele dintre neuroni. Joncțiunile neuro-musculare se numesc *plăci motorii (PM).*

Principala modalitate prin care se realizează comunicațiile neuro-efectorii și neuro-neuronale la mamifere este eliberarea prin neurosecreție din neuronul presinaptic a unei substanțe cu rol de *mediator chimic,* care depolarizează membrana celulei postsinaptice și astfel induce un potențial de acțiune în această celulă. În jurul anului 1960 s-a dovedit că numeroase sinapse la nevertebrate (și unele chiar la vertebrate) funcționează fără etapa intermediară a medierii chimice, prin excitare electrică directă între celule.

Transmisia de la o celulă excitabilă la alta prin intermediul unei substanțe, sau direct prin curenți locali de tipul acelora prin care se propagă potențialul de acțiune (*PA*) în aceeași celulă sînt două modalități de „comunicare" intercelulară cu caracteristici distincte, care se produc în condiții diferite din punct de vedere al anatomiei celulelor aflate în contact și care corespund unor funcții fiziologice diferite.

### 8.3.1. CONDIȚII SPECIFICE PENTRU TRANSMISIA SINAPTICĂ PRIN MEDIATORI CHIMICI ȘI PRIN CURENT ELECTRIC

În figura 8.11, *A* este reprezentat, schematic, contactul intercelular într-o sinapsă cu transmisie chimică, iar în figura 8.11, *B* contactul intercelular la o sinapsă electrică, figurate pe baza imaginilor electronomicroscopice.

Din punct de vedere structural, între sinapsele chimice și cele electrice sînt următoarele deosebiri:

— în cazul sinapselor chimice suprafața de contact între celule este foarte mică în raport cu suprafața totală a celulei postsinaptice, în timp

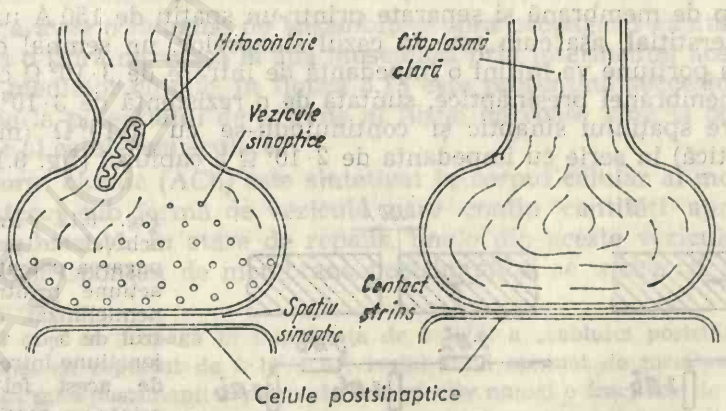



Fig. 8.11. Aspectul contactului intercelular la sinapse cu transmitere chimică (*A*) și electrică (*B*).

ce la sinapsele electrice suprafața de contact este o parte considerabilă din aceasta ;

— spațiul sinaptic (dintre membranele celor două celule) este de aproximativ 200 Å, sau mai mult la sinapsele chimice, în timp ce la sinapsele electrice membranele celor două celule apar în contact ;

— ultrastructura în general și organitele prezente în celula presinaptică și în cea postsinaptică în special sînt diferite la sinapsele chimice, în timp ce la sinapsele electrice se constată o remarcabilă simetrie ultrastructurală a celor două celule. Astfel, la sinapsele chimice, în zona presinaptică, sînt numeroase mici formațiuni aproximativ sferice, iar mitocondriile sînt mult mai numeroase decît în zonele învecinate ale axonului.

Pe baza cunoștințelor de la subcapitolul precedent, referitoare la propagarea potențialului de acțiune în celulele excitabile, putem stabili în ce condiții se poate realiza transmiterea prin cuplaj electric direct între celule. Propagarea pasivă a unei variații de potențial electric transmembranar ($V$) se face cu o scădere exponențială a semnalului la distanța $x$ față de locul de origine al variației $V_0$ :

$$V(x) = V_0 \cdot \exp.(-x/\lambda).$$

Un potențial de acțiune de $\approx 100$ mV se propagă sub forma unei unde de excitație datorită „bateriilor" membranare locale ce fac ca o depolarizare superioară pragului de excitație ($\approx 20$ mV) să declanșeze ciclul regenerativ de variație a permeabilității membranei. Deoarece pragul de excitație este de numai 20 mV față de amplitudinea de 100 mV a $PA$, rezultă că și în condițiile în care o anumită zonă a membranei este făcută inexcitabilă (prin răcire locală sau prin anestezie) semnalul se poate totuși propaga pe o distanță $x$ dată de condiția :

$$\frac{V(x)}{V_0} \geqslant \frac{20}{100}, \text{ adică } \exp.(-x/\lambda) \geqslant 1/5, \text{ deci : } x \leqslant \lambda \cdot \ln 5.$$

Valoarea constantei spațiale $\lambda$ este determinată atît de proprietățile electrice ale axonului, cît și de dimensiunile sale. Impedanța cablului echivalent unui axon nemielinizat cu diametrul de 5 μm este de $2 \cdot 10^7\ \Omega$ (fig. 8.12, $A$). Dacă axonul este septat, cele două capete fiind acoperite cu același tip de membrană și separate printr-un spațiu de 150 Å umplut cu lichid interstițial, așa cum este în cazul sinapselor, un semnal care vine din prima porțiune va întîlni o impedanță de intrare de $3 \cdot 10^9\ \Omega$ corespunzătoare membranei presinaptice, șuntată de o rezistență de $3 \cdot 10^6\ \Omega$ corespunzătoare spațiului sinaptic și continuîndu-se cu $3 \cdot 10^9\ \Omega$ (membrana postsinaptică) în serie cu impedanța de $2 \cdot 10^7\ \Omega$ a cablului (fig. 8.12, $B$).

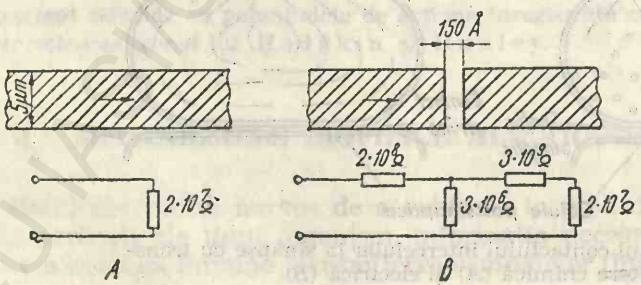



Fig. 8.12. Impedanțele echivalente pentru propagarea potențialului de acțiune printr-un axon nemielinizat, cu diametrul de 5 μm ($A$) și la o joncțiune între doi axoni de acest fel separați printr-un spațiu de 150 Å umplut cu lichid interstițial ($B$).

Chiar în condițiile în care membrana presinaptică este în stare de excitație, impedanța ei reducîndu-se la $2 \cdot 10^8\ \Omega$ în loc de $3 \cdot 10^9\ \Omega$, un semnal electric nu va trece din porțiunea presinaptică în cea postsinaptică decît atenuat pînă la 0,01 % [1], astfel încît este imposibil să mai fie atins pragul de excitație. În cazul joncțiunilor neuromusculare atenuarea este încă și mai mare, deoarece spațiul sinaptic fiind mai larg de 150 Å, iar suprafața terminațiilor axonale mult mai mică decît a fibrei musculare, ele nu îi pot furniza acesteia suficient curent pentru a o depolariza. Apare deci clar că, în condițiile structurale de tipul celor de mai sus, este imposibilă propagarea unui semnal electric excitator din zona pre- în cea postsinaptică.

Situația devine însă diferită pe măsură ce suprafața joncțiunii crește, deoarece în timp ce rezistența de șunt a spațiului sinaptic nu depinde decît de lărgimea acestui spațiu, nu și de diametrul celor două celule aflate în contact, impedanța membranei postsinaptice scade proporțional cu suprafața, adică invers proporțional cu diametrul la pătrat. Putem astfel deduce pentru ce valoare a diametrului (d) devine posibilă propagarea unui semnal din zona pre- în cea postsinaptică, cu o atenuare de 1/5 în loc de $10^{-4}$ :

$$10^{-4}\,(d/5)^2 = 1/5.$$

Găsim : $d \simeq 224\ \mu m$, ceea ce sugerează că între fibrele gigante ale artropodelor, cefalopodelor și moluștelor propagarea semnalului electric la nivelul joncțiunilor intercelulare este perfect posibilă.

Concluzia acestei analize este că între celulele excitabile potențialul de acțiune se poate propaga uneori direct, numai pe baza proprietăților electrice ale membranelor, dar cel mai adesea sînt necesari mediatori chimici care să modifice proprietățile electrice ale membranei postsinaptice, fiecare din cele două modalități operînd în condiții structurale specifice și corespunzînd unor necesități funcționale diferite.

### 8.3.2. SUCCESIUNEA DE PROCESE DIN CARE CONSTĂ TRANSMISIA CHIMICĂ SINAPTICĂ

Pentru a avea o imagine de ansamblu asupra propagării excitației electrice de la o fibră nervoasă la una musculară prin intermediul acetilcolinei (ACh) ca mediator chimic, în figura 8.13 este prezentată succesiunea proceselor, de la potențialul de acțiune al fibrei nervoase pînă la potențialul de acțiune al celulei musculare.

*Mediatorul chimic* (ACh) este sintetizat în corpul celular al motoneuronilor și stocat sub formă de vezicule care conțin cantități aproximativ egale de substanță. În stare de repaus, unele din aceste vezicule se atașează în mod spontan de membrana postsinaptică, se sparg și își varsă

[1] Semnalul care se propagă în impedanța de $2 \cdot 10^7\ \Omega$ a „cablului postsinaptic" este proporțional cu raportul de $2 \cdot 10^7/3 \cdot 10^9$, restul fiind atenuat de membrana postsinaptică. În zona postsinaptică pătrunde însă efectiv numai o fracțiune de $3 \cdot 10^6/2 \cdot 10^9$ din semnalul inițial, restul închizîndu-se prin șuntul reprezentat de spațiul sinaptic. În ansamblu, deci, atenuarea semnalului este de $(2 \cdot 10^7/3 \cdot 10^9) \times (3 \cdot 10^6/2 \cdot 10^8) = 10^{-4}$.

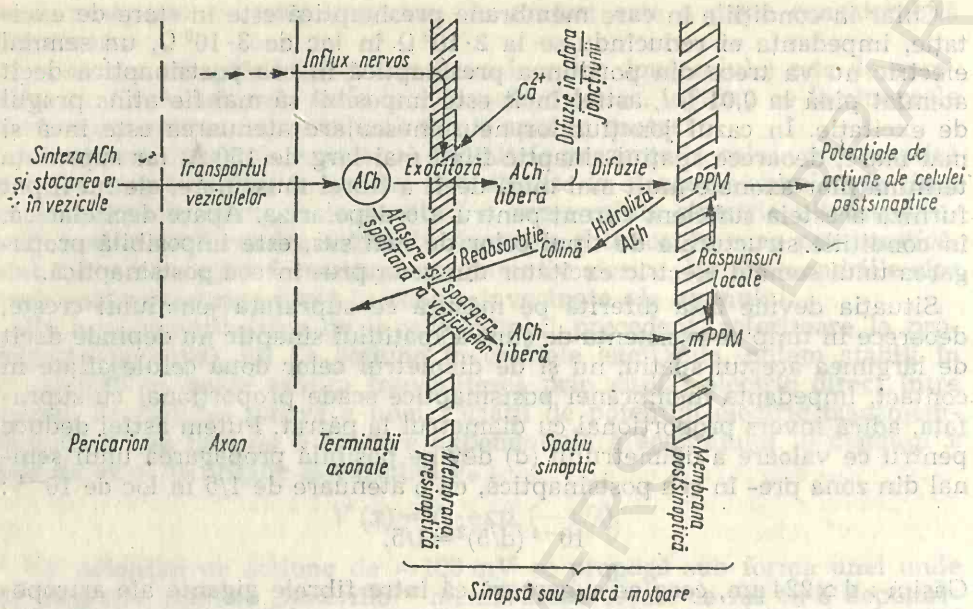



Fig. 8.13. Succesiunea și localizarea proceselor din care constă transmisia sinaptică.

conținutul în spațiul sinaptic. Mediatorul chimic astfel eliberat produce mici depolarizări ale membranei postsinaptice exprimate prin *mPPM — potențialele miniaturale ale plăcii motorii.* Impulsul nervos determină o spargere masivă a veziculelor și eliberarea în spațiul sinaptic a unei cantități de ordinul a $10^7$ molecule de ACh, deci a unui număr de 200 vezicule. Mediatorul chimic difuzează prin spațiul sinaptic și interacționează cu anumite molecule cu rol de receptori, situate pe fața externă a membranei postsinaptice. Formarea complexelor (*mediator chimic-receptor*) produce modificări specifice ale permeabilității membranei pentru diferiți ioni, astfel încît potențialul de membrană suferă o variație care reprezintă *PPM — potențialul plăcii motorii.* Acesta este un răspuns electric local care, însă, atunci cînd depășește valoarea de prag caracteristică respectivei celule postsinaptice, dă naștere *potențialului de acțiune (PA)* propagabil care, în fibrele musculare, declanșează contracția. Tot pe membrana postsinaptică este și o enzimă — *acetilcolinesteraza* (AChE) — care hidrolizează mediatorul chimic ACh transformîndu-l în precursorii din care provine, iar aceștia sînt parțial reabsorbiți în porțiunea presinaptică, servind în continuare la ulterioara sinteză de mediator.

### 8.3.3. SINAPSE CU TRANSMISIE ELECTRICĂ

Cuplajul electric, numit și *electrotonic,* se asociază întotdeauna cu un anumit tip de joncțiune între cele două celule, ale căror membrane nu sînt separate decît de un spațiu de 20—40 Å, grosimea totală a celor două membrane și a spațiului dintre el fiind de 150 Å. Spațiul îngust dintre

membrane este traversat de o rețea de canalicule distribuite hexagonal, care constituie contacte directe între citoplasmele celor două celule.

În mod evident, o joncțiune de acest tip prezintă la trecerea între cele două celule o impedanță electrică mult mai mică față de contactul de la sinapsele chimice, permițînd astfel o propagare eficientă a unui semnal electric.

Forma cea mai simplă și mai puțin diferențiată de sinapsă electrică este *septul transversal*, care segmentează axonii giganți din cordonul nervos longitudinal al unor *Anelidae* și *Crustaceae*. În figura 8.14, *A* este schematizată dispunerea microelectrozilor pentru trecerea curentului și pentru înregistrarea potențialului la joncțiunea septată a axonilor giganți laterali ai racului, iar în figura 8.14, *B* este repetată aceeași dispunere a microelectrozilor pentru studierea unei sinapse electrotonice oarecare.

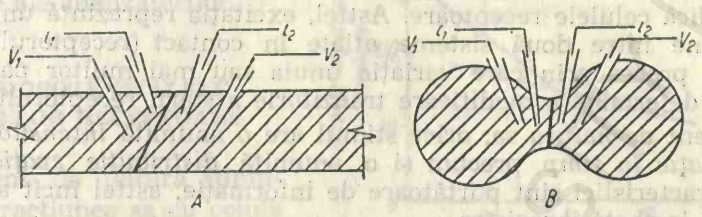



Fig. 8.14. Dispunerea microelectrozilor pentru trecerea curentului ($i_1$, $i_2$) și pentru înregistrarea potențialelor ($V_1$, $V_2$) la joncțiunea septată a axonilor giganți ai racului (*A*) și la sinapsa electrotonică între două celule oarecare (*B*).

Schema electrică echivalentă a contactului intercelular din figura 8.14, *B* este reprezentată în figura 8.15.

Deoarece implică o latență mult mai mică decît transmisia chimică și poate fi bidirecțională, transmisia sinaptică prin cuplaj electric direct este modalitatea adecvată de interconectare a neuronilor din același nucleu și care trebuie să genereze impulsuri în mod sincron. Neuronul mai depolarizat tinde să îi excite și pe ceilalți, fiind pe de altă parte inhibat de către aceștia, astfel încît pragul de excitare este atins aproape simultan de tot ansamblul de neuroni din respectivul nucleu central.

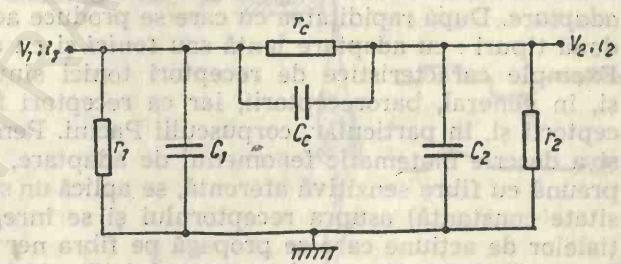



Fig. 8.15. Caracteristicile electrice ale unei sinapse cu transmisie directă, așa cum pot fi măsurate și calculate pe baza înregistrării curenților și potențialelor, ca în figura 8.14. Cu $r_c$ și $C_c$ sînt notate rezistența și, respectiv, capacitatea zonei de contact intercelular.

Sinapsele electrice nu sînt în general adecvate pentru procesele de inhibiție în care potențialul postsinaptic trebuie să fie de sens invers celui presinaptic. De asemenea, nici fenomenele de „facilitare" și de „oboseală" (creșterea și, respectiv, scăderea eficienței transmisiei sinaptice ca rezultat al activității anterioare) nu sînt proprii sinapselor electrice.

## 8.4. MECANISMELE BIOFIZICE ALE FUNCȚIONĂRII RECEPTORILOR BIOLOGICI

Informația pe care o primește sistemul nervos despre mediul ambiant provine, în primă instanță, din efectele produse de mediu asupra unor celule specializate — receptorii biologici.

Prin *stimul* (sau *excitant*) se înțelege variația unui parametru caracteristic al mediului cu care vin în contact detectorii sistemului excitabil respectiv, adică celulele receptoare. Astfel, excitația reprezintă un proces de interacțiune între două sisteme aflate în contact (receptorul și mediul ambiant), proces prin care variația unuia sau mai multor parametri ai mediului determină o modificare tranzitorie a stării receptorului.

Indiferent de *natura* sa, orice stimul are o anumită *intensitate*, o anumită *variație în timp*, precum și o anumită *distribuție spațială*. Toate aceste caracteristici sînt purtătoare de informație, astfel încît analizatorii trebuie să le poată înregistra.

Intensitatea stimulilor este codificată prin amplitudinea răspunsului receptorilor. Referitor la intensitatea stimulilor care pot fi detectați de către receptorii biologici, trebuie relevată sensibilitatea înaltă a acestora, sensibilitate care, în majoritatea cazurilor, depășește cu mult pe aceea a dispozitivelor construite de către om. Pe de altă parte, faptul că atît celulele receptoare, cît mai ales structurile neurale cu care sînt asociate, prezintă *praguri* de funcționare caracteristice (adică valori critice care trebuie atinse de către stimuli pentru a produce un răspuns în analizator) este important prin aceea că protejează sistemul nervos de o avalanșă de informație senzorială, care l-ar solicita în mod inutil pentru activitatea de ansamblu a organismului respectiv.

Se constată că răspunsul unui receptor la un stimul de intensitate constantă nu rămîne constant ci scade în timp, acesta fiind fenomenul de *adaptare*. După rapiditatea cu care se produce adaptarea, receptorii sînt de două tipuri : cu adaptare lentă sau *tonici* și cu adaptare rapidă sau *fazici*. Exemple caracteristice de receptori tonici sînt fusurile neuromusculare și, în general, baroreceptorii, iar ca receptori fazici menționăm tangoreceptorii și, în particular, corpusculii Pacini. Pentru a studia experimental și a descrie matematic fenomenul de adaptare, se izolează receptorul împreună cu fibra senzitivă aferentă, se aplică un stimul tip treaptă (de intensitate constantă) asupra receptorului și se înregistrează frecvența potențialelor de acțiune care se propagă pe fibra nervoasă. Considerînd această frecvență drept răspunsul receptorului ($R$), scăderea sa în timp ($t$) exprimă fenomenul de adaptare. Reprezentînd grafic dependența dintre $R$ și $t$ pentru diferite tipuri de receptori, se constată că în toate cazurile aceasta este de forma :

$$\log R = \log C - k \log t,$$

în care $C$ este o constantă. Această relație poate fi scrisă și sub forma :

$$R = C \cdot t^{-k},$$

arătînd că răspunsul receptorilor scade invers proporțional cu o putere $k$ a timpului scurs de la aplicarea stimulului constant. Receptorilor tonici

le corespund valori mici ale lui $k$, iar receptorilor fazici valori mai mari (fig. 8.16).

Referitor la diferitele caracteristici ale stimulilor, trebuie subliniat că în ceea ce privește codificarea calității și a intensității, rolul major revine proceselor de la nivelul receptorilor înșiși, în timp ce pentru codificarea distribuției temporare și spațiale intervin etapele de prelucrare a informației în etajele superioare ale analizatorilor.

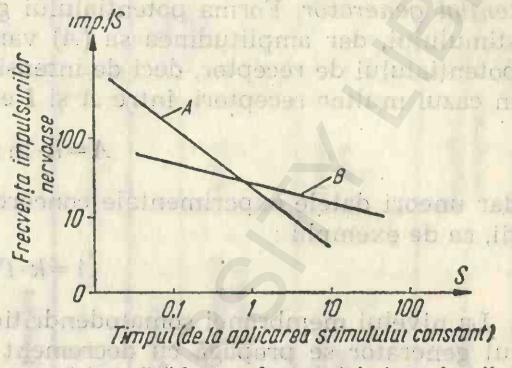



Fig. 8.16. Scăderea frecvenței impulsurilor nervoase pe fibrele aferente unui receptor cu adaptare rapidă (*A*) și lentă (*B*).

### 8.4.1. BIOPOTENȚIALELE CELULELOR RECEPTOARE

Indiferent de natura stimulului, interacțiunea sa cu celula receptoare dă naștere, la nivelul acesteia, unei variații a potențialului electric transmembranar, această variație constituind *potențialul de receptor*, care reproduce forma stimulului, reprezentînd, deci, o traducere analoagă a acestuia (fig. 8.17). (Potențialele de receptor, asemenea tuturor potențialelor electrice celulare, sînt culese cu ajutorul microelectrozilor de sticlă, introduși în vecinătatea sau în interiorul celulelor). Un potențial de receptor de ordinul zecilor de milivolți, care face să circule timp de cîteva milisecunde un curent de ordinul a $10^{-9}$ A, implică debitarea de către celula receptoare a unei energii de ordinul a $10^{-13}$ J. Dacă stimulul care a declanșat acest răspuns este o cuantă de lumină cu lungimea de undă de 500 nm, energia sa este de $4 \times 10^{-9}$ J, fiind, deci, cu multe ordine de mărime inferioară energiei răspunsului celulei receptoare. Acest exemplu ilustrează faptul că, încă de la nivelul celulelor receptoare, procesul de traducere a unui stimul de o natură oarecare într-un fenomen bioelectric se face prin eliberarea de energie furnizată de metabolismul celular. Sursa di-

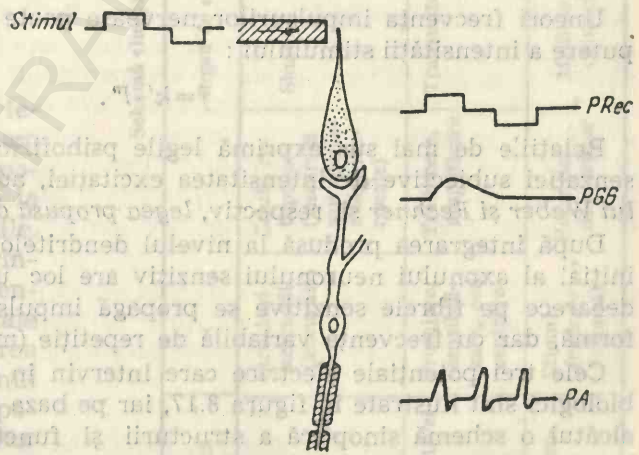



Fig. 8.17. Schemă a biopotențialelor implicate în funcționarea receptorilor, ilustrate pentru cazul unui mecanoreceptor: *PRec* — potențial de receptor (la nivelul celulei receptoare); *PGG* — potențial generator gradat (la nivelul dendritelor neuronului senzitiv); *PA* — potențiale de acțiune (pe axonul neuronului senzitiv).

rectă a acestei energii sînt gradienții ionici electrochimici menținuți prin activitatea pompelor de sodiu și de potasiu.

Potențialul de receptor determină eliberarea de mediator chimic sinaptic de către celula receptoare, dînd naștere, astfel, la nivelul terminațiilor dendritice ale neuronului senzitiv, unei variații de potențial numită *potențial generator*. Forma potențialului generator nu mai reproduce forma stimulului, dar amplitudinea sa ($A$) variază gradat în funcție de aceea a potențialului de receptor, deci de intensitatea stimulului ($I$). Se constată că, în cazul multor receptori, între $A$ și $I$ există o relație logaritmică :

$$A = k \cdot \ln (I),$$

dar uneori datele experimentale concordă mai bine cu alte tipuri de relații, ca de exemplu :

$$A = k \cdot I^n.$$

La nivelul membranei somatodendritice a neuronului senzitiv, potențialul generator se propagă cu decrement și are loc o însumare spațială și temporală a diferitelor potențiale generatoare induse de una sau mai multe celule receptoare cu care face sinapse neuronul respectiv. Amplitudinea rezultantă a potențialului generator determină, la nivelul conului axonal al neuronului senzitiv, apariția unor potențiale de acțiune (impulsuri nervoase) a căror amplitudine este constantă (comportare de tip „totul sau nimic"), dar a căror frecvență de repetiție ($f$) variază proporțional cu amplitudinea potențialului generator. Rezultă, deci, că frecvența impulsurilor nervoase este proporțională cu logaritmul intensității stimulului :

$$f = k' \cdot \log (I).$$

Uneori frecvența impulsurilor nervoase poate să fie reprezentată ca o putere a intensității stimulului :

$$f = k' \cdot I^n.$$

Relațiile de mai sus exprimă legile psihofizice care leagă intensitatea senzației subiective de intensitatea excitației, adică binecunoscuta *lege a lui Weber și Fechner* și, respectiv, *legea propusă de Stevens*.

După integrarea produsă la nivelul dendritelor, la nivelul segmentului inițial al axonului neuronului senzitiv are loc un proces de codificare, deoarece pe fibrele senzitive se propagă impulsuri nervoase identice ca formă, dar cu frecvență variabilă de repetiție (modulate în frecvență).

Cele trei potențiale electrice care intervin în funcționarea receptorilor biologici sînt ilustrate în figura 8.17, iar pe baza celor de mai sus se poate alcătui o schemă sinoptică a structurii și funcționării receptorilor (tabel 8.3). Această schemă descrie cazul cel mai general, dar, în diferite situații particulare, unele etape pot fuziona. Astfel, pentru mulți mecanoreceptori (corpusculi Pacini etc.) potențialul de receptor și generarea impulsurilor nervoase au loc în aceeași celulă, așa încît în aceste cazuri este greu de distins între potențialul de receptor și potențialul generator.

Pe baza descifrării fenomenologiei funcționării receptorilor, au fost realizate numeroase modele capabile să simuleze răspunsul acestora la stimuli. Un astfel de model electronic constă dintr-un traductor de tip exponențial (de exemplu, o celulă fotoelectrică), ce transformă un stimul de o natură oarecare într-un potențial electric, o rețea rezistor-inductor-capacitor, un amplificator, un oscilator de relaxare și un generator de impulsuri. Un astfel de montaj generează impulsuri electrice asemenea potențialelor de acțiune axonale, cu o frecvență proporțională cu amplitudinea potențialului dat de traductor, acest potențial depinzînd la rîndul său de stimulul aplicat, conform cu legea de funcționare a traductorului (care, în acest caz, este de tip exponențial).

*

În acest capitol, studiind fenomenele bioelectrice, ne-am ocupat de descrierea biopotențialelor care se produc la nivelul celulelor excitabile. Într-un mod similar în principiu cu compunerea potențialelor de acțiune axonale din care rezultă manifestarea electrică de ansamblu a unui nerv, se realizează și biopotențialele compuse ale altor țesuturi excitabile : mușchi, retină, cord, centri nervoși etc. Studierea electromiogramei, electroretinogramei, electrocardiogramei, înregis-

*Tabelul 8.3*

**Schemă sinoptică a structurii și funcției receptorilor**

| Structura macroscopică | Organ de simț | | | | Nerv senzitiv | | | Centru | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Structura microscopică | Structuri accesorii (aneurale) | Celulă receptoare (aneurală sau specializări neuronale) | Sinapsă | Neuron senzitiv | | | | Terminații axonale | Sinapsă |
| | | | | Dendrită | Soma | Segment inițial | Axon | | |
| Funcția respectivei structuri | Protejare, sensibilizare, concentrare | Traducere, amplificare | Transmitere | Integrare și generare de impulsuri | | | Propagare | Transmitere | |
| Fenomenul și suportul său | Stimul (energie externă) → | Potențial de receptor → | Mediere chimică → | Potențial generator → | | | Impulsuri nervoase → | Mediere chimică | |

trărilor electroencefalografice etc. este de maximă importanță pentru cunoașterea funcției organelor excitabile, dar ea formează cu precădere obiectul fiziologiei.

**BIBLIOGRAFIE**


Gougérot, L. *Electricité, électrophysiologie, électronique.* Édit. Masson, Paris, 1973.

Lüttgau, H. C., Glitsch, H. *Membrane Physiology of Nerve and Muscle Fibres.* Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1976.

Mărgineanu, D.-G. *Mecanismele funcționării receptorilor biologici.* În: „Natura", nr. 3, p. 12, 1974.

Vasilescu, V., Mărgineanu, D.-G. *Introducere în neurobiofizică* (Capit. III, V și VI). Editura științifică și enciclopedică, București, 1979.


BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

# 9

# NOȚIUNI DE BIOMECANICĂ

Mișcarea este una dintre însușirile generale ale materiei. Pentru materia vie, această proprietate este întîlnită la toate nivelele de organizare, de la structurile subcelulare și pînă la ecosisteme.

Exceptînd formele pasive ale mișcării, cum ar fi cele datorate agitației termice a moleculelor, o importanță deosebită de studiu o prezintă motilitatea, care îmbracă un caracter mai complex în cadrul funcțiilor de relație dintre celulă, respectiv organism, și mediul ambiant, caracter exprimat prin *motricitate*. Aceasta este reprezentată printr-un lanț de reacții de complexitate variabilă, prin care energia chimică stocată în moleculele macroergice de ATP este convertită în energie mecanică de contracție, ansamblul acestor procese fiind cantonat în structuri specifice, contractile.

Nu se va insista asupra mecanicii celulare și nici asupra motilității plantelor, ci se vor prezenta unele aspecte legate de motilitatea și locomoția animală, dat fiind caracterul mult mai complex al acestor fenomene.

Animalele au capacitatea de a se deplasa, și prin aceasta produc lucru mecanic. Mișcările pot fi reprezentate prin locomoție, transport (circulația sîngelui, ventilația pulmonară, transportul alimentelor etc.), sau prin alte forme, cum ar fi modificarea poziției celulelor, cromatofori, eliminarea secrețiilor glandulare ș.a.

În ansamblu, deosebim mișcările realizate prin formarea de pseudopode — mișcarea amiboidală, mișcările realizate prin prelungiri celulare permanente (flageli sau cili) și mișcări datorate musculaturii.

## 9.1. MUȘCHIUL ȘI CONTRACȚIA MUSCULARĂ

Mișcările datorate mușchilor se bazează pe capacitatea fibrelor musculare de a utiliza energia chimică procurată în procesele metabolice, de a-și scurta axul longitudinal și de a reveni la dimensiunile inițiale.

Unitatea morfo-funcțională a mușchiului striat este *sarcomerul*, a cărui lungime, la homeoterme, este de 2,2 μm (fig. 9.1).

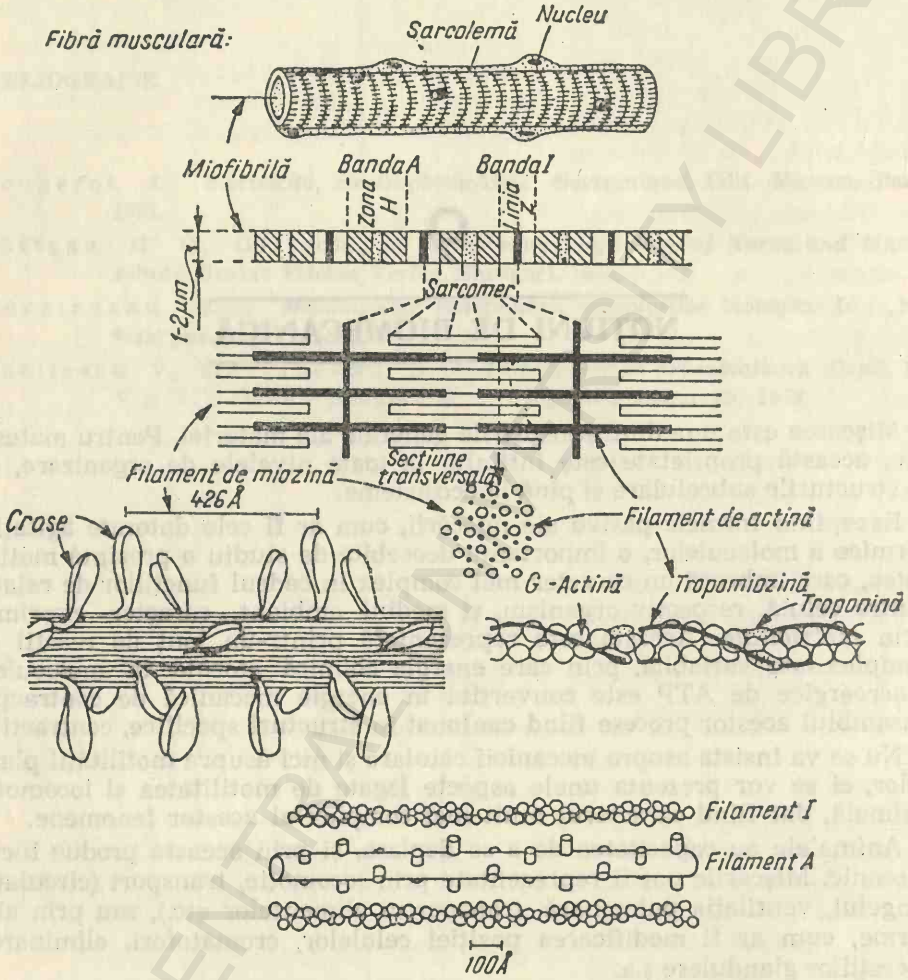



Fig. 9.1. Alcătuirea unui mușchi striat.

În cadrul sarcomerului, la nivelul benzilor *A*, se găsesc *filamente groase*, care au un diametru de aproximativ 100 Å și o lungime de 1,5 μm. Ele sînt constituite din molecule de *miozină* (proteină fibrilară cu G.M. = 600 000), asemănătoare cu o baghetă subțire, terminată prin două capete globulare, care dau moleculei aspectul unei crose de hochei (fig. 9.2). Cîteva mii din aceste molecule sînt reunite într-un singur filament, astfel că acesta este format din porțiunea liniară a moleculei, iar capetele globulare sînt orientate lateral, la exteriorul filamentului. În jurul filamentelor groase se grupează cîte șase *filamente subțiri*, care au un diametru de aproximativ 50 Å

și o lungime de 1 μm (fig. 9.3). Ele se întind de la linia Z pînă la zona *A* și sînt formate din proteinele : *actină, tropomiozină* și *troponină*. Moleculele de actimă sînt particule sferice mici (G.M.=70 000) — așa-numite *molecule globulare* (sau G-actina). Ele sînt aranjate ca un șirag de perle și, în cadrul filamentului, se prezintă ca două lanțuri torsionate, dînd o *formă fibrilară* (sau F-actina). Fiecare lanț conține aproximativ 150—200 molecule de G-actină și este însoțit de cîte două filamente atașate intim, alcătuite din molecule de tropomiozină. Fiecare moleculă de tropomiozină însoțește, în general, șapte molecule de G-actină. Între filamentele de tropomiozină se găsesc moleculele de troponină (proteină globulară cu G.M.=50 000).

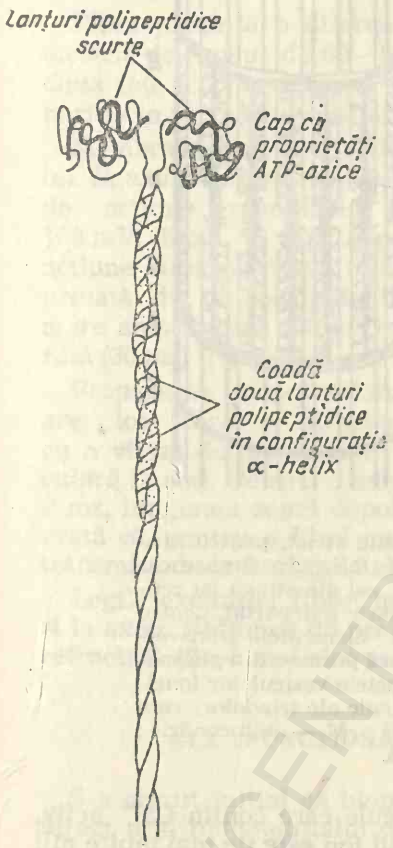
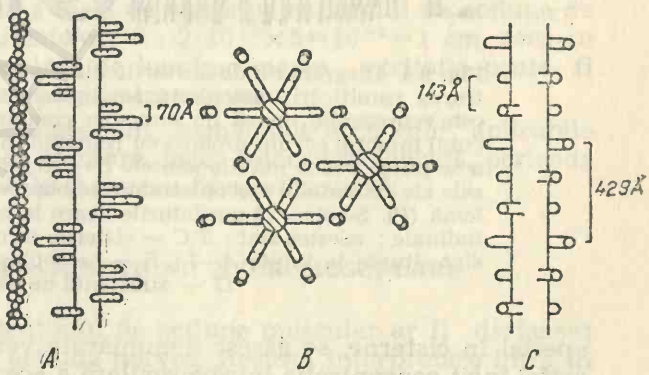



Fig. 9.2. Reprezentarea schematică a unei molecule de miozină.

Fig. 9.3. Diagrama structurii filamentelor de actină (subțire) și miozină (gros) : *A* — superhelixul dublu catenar de actină ; pasul unei spirale este cuprins între 350—400 Å. Alături se observă cele șase rînduri suprapuse de capete pe filamentul de miozină; *B* — așezarea unui filament de actină opus fiecărui rînd de proeminențe, în secțiune transversală; *C* — structura filamentelor groase ale mușchilor, obținută prin analiză cu raze X.

Se observă că, spre deosebire de modelul din *A*, dedus pe baza studiilor de microscopie electronică, modelul cu raze X arată perechi de capete repartizate fiecare, pentru fiecare parte a filamentului.




Fibra musculară este străbătută de două rețele de *canalicule*. Se pot deosebi două rețele diferite, care iau naștere din ramificarea acestor canalicule (fig. 9.4).

Canaliculele uneia dintre rețele sînt dispuse longitudinal și străbat întreaga sarcoplasmă, fiind într-un contact foarte strîns cu miofibrilele. Rețeaua reprezintă reticulul endoplasmatic specific oricărei celule și este denumit, în acest caz, *reticul sarcoplasmatic (R.S.)*. Acesta se dilată la nivelul liniei Z, formînd *cisterne terminale*.

Canaliculele celei de-a doua rețele merg transversal (poartă numele de tubuli-*T*), de la nivelul miofibrilelor pînă la suprafața celulei, unde se deschid printr-un por. Aceste orificii sînt localizate la mușchiul de broască în dreptul liniei Z. Tubulii-*T*, împreună cu cisternele *RS* învecinate sarcomerului, cu care sînt în contact intim, au fost denumiți *triade*. În *RS*, și în

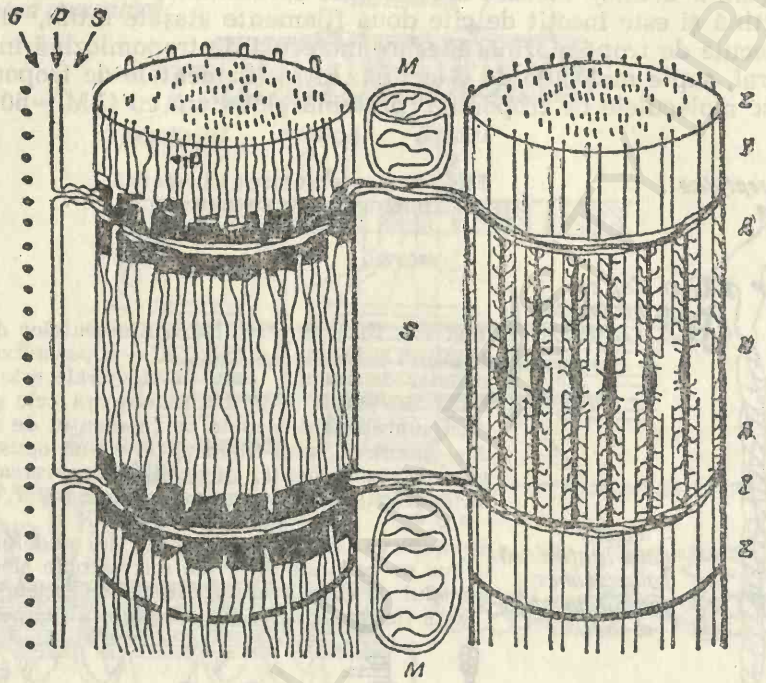



Fig. 9.4. Diagrama a două fibrile ale mușchiului striat, pentru ilustrarea ramificării reticulului sarcoplasmatic (*R.S.*). În fiecare caz este reprezentat numai un sarcomer complet, cel din stînga cu reticulul intact și cel din dreapta cu reticulul în parte îndepărtat, pentru a se putea vedea miofilamentele de dedesubt. Elementele transversale ale reticulului sarcoplasmatic se observă că pornesc din plasmalemă (*P*). Se observă umflăturile negre la capetele veziculelor longitudinale ; acestea sînt : *T.C* — cisterne terminale ale triadelor, care sînt situate la limita *A—I* ; *S* — sarcoplasma ; *M* — mitocondrie ; *G* — substanță de bază.

special în cisterne, se găsesc nenumărate vezicule care conțin $Ca^{2+}$ activ, astfel încît concentrația intraveziculară a acestui ion este de mai multe mii de ori mai mare decît în structurile vecine, datorită acțiunii unor „pompe" pentru ionii de calciu.

Fibrele musculare se găsesc într-o strînsă interdependență atît cu sistemul vascular, cît și cu cel nervos. Joncțiunea neuro-musculară este denumită *placă motorie* („end plate").

Contracția, fenomen specific biofizicii musculare, este dată de deplasarea relativă a moleculelor proteice de actină și miozină. Această deplasare este un fenomen local, care nu se produce decît dacă sarcolema este suficient de depolarizată. Depolarizarea este, la rîndul ei, asigurată printr-un

potențial de acțiune muscular, propagat în lungul fibrei. Acesta este declanșat printr-un influx nervos, care ajunge la joncțiunea neuro-musculară.

### 9.1.2. BIOELECTROGENEZA FIBREI MUSCULARE

Studiile efectuate cu electrozi superficiali, sau cu microelectrozi intracelulari, au arătat că bioelectrogeneza fibrei musculare depinde de proprietățile sarcolemei și se aseamănă cu mecanismele funcționale ale neurilemei axonului nemielinizat.

Fibra prezintă o diferență de potențial electric de repaus de 60—90 mV între cele două fețe ale membranei, exteriorul fiind pozitiv în raport cu interiorul.

Membrana este excitabilă, conform *legii lui Bowditch*, dînd naștere unui potențial de acțiune monofazic de aproximativ 100 mV. Faza de vîrf a potențialului de acțiune durează cîteva milisecunde și este urmată de un postpotențial negativ de mare amplitudine (20 mV) și de mare durată (30 ms) (fig. 9.5).

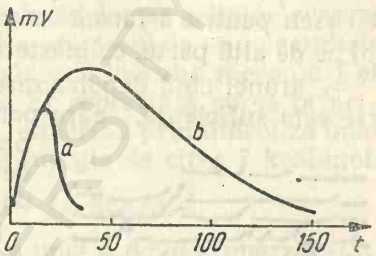



Fig. 9.5. Modificarea potențialului de placă motorie sub influența prostigminei :

*a* — potențial de placă motorie normal;
*b* — potențial de placă motorie modificat.

Propagarea biopotențialului de acțiune are loc fără o direcție preferențială, cu o viteză de cîțiva metri pe secundă (4—5 $ms^{-1}$ pentru celula musculară la om). Pentru o durată a fazei de vîrf a potențialului de acțiune de 2 ms, lungimea zonei depolarizate va fi : $2 \cdot 10^{-3} \times 5 = 10^{-2} = 1$ cm, ceea ce arată că, pentru o fibră musculară de lungime medie, excitația poate fi transmisă de la un cap la altul, practic instantaneu.

Legile excitației fibrei musculare sînt asemănătoare cu cele aplicabile și la axon. Noțiunea de prag de excitare, legea intensitate-durată, perioada refractară (2—5 ms) sînt valabile și pentru fibra musculară.

### 9.1.3. FUNCȚIONAREA JONCȚIUNII NEUROMUSCULARE

S-a crezut inițial că biopotențialul de acțiune muscular ar fi declanșat direct prin biopotențialul de acțiune nervos. Această interpretare intră în contradicție cu o dificultate de ordin fizic : diametrul fibrei musculare este de aproximativ 10 ori mai mare decît al axonului. Suprafața musculară depolarizată este, deci, mult mai mare decît suprafața nervoasă. Probabil că axonul furnizează o densitate locală de biocurent, suficientă pentru a aduce sarcolema la potențialul de prag.

Numeroasele rezultate experimentale au demonstrat că în mecanismele funcționale ale plăcii motorii intervin fenomene chimice care se soldează cu eliberarea unui mediator chimic care este acetilcolina (Ach).

Rezumînd, putem menționa următoarele fenomene elementare care se produc în placa motorie (v. și *8.3.2.*) ;

— sinteza şi stocarea Ach în partea terminală a fibrei nervoase. În această zonă se găsesc numeroase vezicule cu diametrul de cîteva sutimi de Å, conţinînd fiecare 1 000—10 000 molecule de Ach ;

— un influx nervos eliberează, de o manieră sincronă, cam 200 pachete (cuante) de Ach, adică aproximativ $10^6$ molecule ;

— Ach difuzează spre placa motorie. Combinaţia sa cu receptorii plasaţi pe membrana postsinaptică dă naştere unei depolarizări locale numită *potenţial de placă motorie (p.p.m.)*. Acesta este scurt, deoarece Ach este rapid distrusă de colinesteraza din placa motorie. Sînt cunoscute două tipuri de receptori competitivi pentru Ach : *a)* pe de o parte, acei care se combină cu Ach pentru a forma complexul care depolarizează placa motorie ; *b)* pe de altă parte, colinesteraza care hidrolizează Ach ;

— atunci cînd depolarizarea sarcolemei prin potenţialul de placă motorie este suficientă, apare potenţialul de acţiune propagat. Potenţialul de placă motorie se comportă ca un prepotenţial, determinînd o întîrziere a răspunsului muscular de ordinul a 0,8 ms.

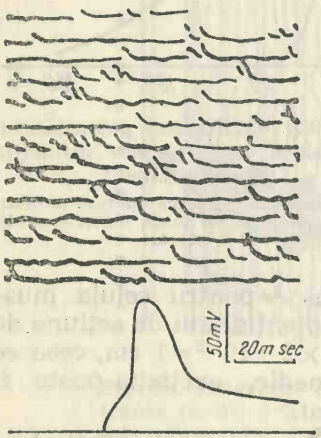



Fig. 9.6. Traseul superior : potenţiale miniaturale spontane înregistrate intracelular, la nivelul joncţiunii neuromusculare la broască. Traseul inferior — acelaşi preparat : potenţial de acţiune obţinut prin stimularea electrică a nervului aferent (aceeaşi calibrare pentru două grupe de trasee ; cele pozitive, în sus).

**Potenţiale miniaturale.** În absenţa unei stimulări, activitatea unei plăci motorii nu este nulă. B. Katz şi colab., P. Fatt şi J. del Castillo au pus în evidenţă foarte mici variaţii ale potenţialului de membrană al plăcii motorii. Este vorba de scurte depolarizări (mai puţin de $10^{-1}$ sec., ca durată) şi de amplitudine foarte mică (aproximativ 1 mV), care au fost denumite *potenţiale miniaturale*. Ele apar ca o manifestare aleatorie (fig. 9.6). Apariţia potenţialelor miniaturale este determinată de eliberarea aleatorie a unor mici cantităţi de Ach (aproximativ 6 000 molecule), prin ruperea individuală a veziculelor. Frecvenţa potenţialelor miniaturale depinde de gradul de polarizare a membranei presinaptice. O hiperpolarizare a acesteia diminuează frecvenţa potenţialelor miniaturale, iar o hipopolarizare are efect invers. Amplitudinea lor este determinată însă de proprietăţile membranei postsinaptice. Pe baza acestor date se poate afirma că potenţialul de placă motorie este rezultatul suprapunerii unui număr (mai mare de 100) de potenţiale miniaturale simultane, corelate cu ruperea sincronă a veziculelor cu Ach, rupere provocată de potenţialul de acţiune al motoneuronului. În consecinţă, amplitudinea potenţialului plăcii motorii depinde de potenţialul iniţial impus membranei postsinaptice. Această amplitudine este crescută dacă membrana postsinaptică este hiperpolarizată ; diminuează în cazul depolarizării şi este anulată dacă potenţialul de membrană este de aproximativ —10 mV (valoarea de —10 mV este considerată potenţial de echilibru pentru mecanismele ionice care produc potenţialul de placă motorie).

## 9.2. MECANISMUL MOLECULAR AL CONTRACȚIEI MUSCULARE

Celulele musculare au capacitatea, așa cum am mai arătat, de a transforma energia chimică în lucru mecanic. În condiții optime, aproximativ 33% din energie este transformată în lucru mecanic, iar restul de 66% în căldură. Randamentul funcțional al organismului uman, de exemplu, calculat pe baza raportării lucrului mecanic produs la energia chimică utilizată, este cuprins între 30—35%, fiind net superior randamentului funcțional al mașinilor termice (sub 10%).

Energia chimică provenită din degradarea glucidelor și a lipidelor este stocată sub forma legăturilor macroergice din moleculele nucleotidtrifosfaților și apoi va fi utilizată în vederea producerii lucrului mecanic. Cel mai important nucleotidtrifosfat este *ATP*-ul. El reprezintă sursa principală energetică pentru declanșarea contracției, eliberînd prin hidroliza unei grupări terminale de ortofosfat o cantitate de energie de circa 7 kcal/mol.

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + P_a; \quad \Delta G^\circ = -7{,}3 \text{ kcal/mol.}$$

În continuare, este posibilă încă o scindare a unei a doua grupări fosfat, controlată în celula musculară de către miochinază :

$$2\,ADP \rightleftharpoons ATP + AMP.$$

Rezerva de ATP din celula musculară nu este prea mare, suficientă numai pentru un număr mic de contracții. O rezervă fosfat energetică în celulă, în plus, este reprezentată prin moleculele de *fosfageni*. Fosfagenul specific vertebratelor este creatinfosfatul (*PC*), la artropode este argininfosfatul, iar la *Annelidae* au fost descoperite și alte tipuri de fosfageni : taurocianinfosfatul, glucocianinfosfatul și lombricinfosfatul.

Transformarea și trecerea fosfatului de la PC la ADP este reversibilă și controlată de creatinchinază (*reacția Lohmann*) :

$$Cr \sim P + ADP \rightleftharpoons Cr + ADP \sim P \ (= ATP).$$

În faza de relaxare, rezerva de PC va fi refăcută prin degradarea glucidelor.

O rezervă energetică importantă a multor celule musculare o constituie stocul de *glicogen*. Prin degradarea secvențială a acestuia, este eliberată energia necesară resintezei ATP-ului și pentru refacerea rezervei de PC. Degradarea anaerobă a glicogenului conduce la formarea piruvatului și apoi a lactatului (vezi mecanismul glicolizei). În condiții aerobe degradarea piruvatului continuă prin ciclul citraților, apoi prin lanțul respirator pînă la $CO_2$ și $H_2O$. Astfel se obține de 18 ori mai multă energie decît prin degradarea anaerobă pînă la piruvat.

Degradarea substratului prin ciclul citraților permite și utilizarea rezervelor lipidice pentru eliberarea de energie. Diferite insecte, în special lepidoptere, lăcustele migratoare și altele (cu excepția albinelor și mușteloor domestice) utilizează în timpul zborurilor de lungă durată, aproape exclusiv, energia produsă prin degradarea lipidelor. Cum însă lipidele, la aceeași unitate de greutate, pun în libertate de 8 ori mai multă energie decît glicogenul, rezultă că utilizarea lor, în special în zborurile pe dis-

tanțe lungi, constituie un avantaj. Menționăm că și fibrele musculare cardiace ale vertebratelor sînt bogate în enzime specifice metabolismului lipidic. La o activitate normală a cordului, cam 35% din oxigenul folosit servește la degradarea glucidelor și 65% pentru arderile lipidice.

Contracția celulelor musculare se realizează prin „glisarea" filamentelor subțiri de actină printre filamentele de miozină. Prin aceasta, zonele *I* și *H* ale sarcomerului devin mai înguste (fig. 9.7). Zonele *H* pot să dispară

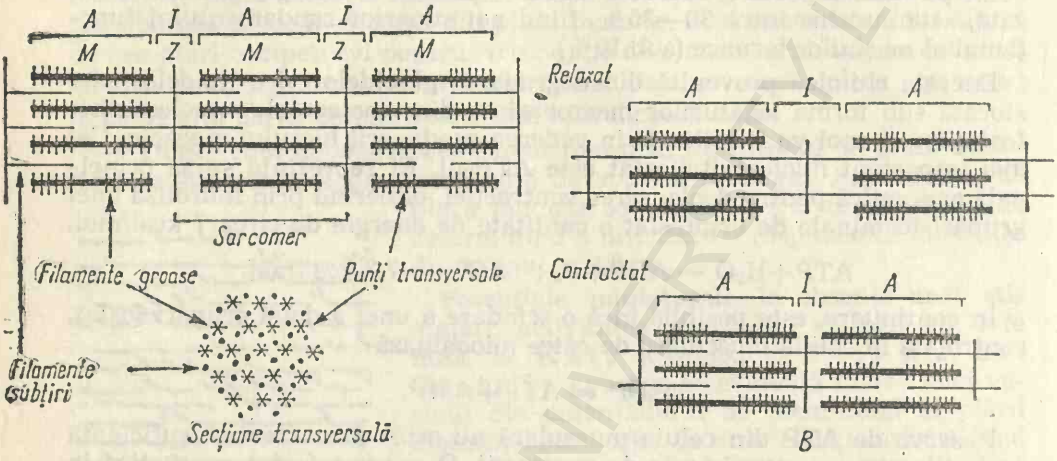



Fig. 9.7. *A* — reprezentarea schematică a structurii fine a unei miofibrile. Se pot recunoaște sarcomerele, miofilamentele groase și cele scurte, precum și benzile A și I. În partea inferioară a figurii (*B*) este reprezentat modelul glisant. Filamentele subțiri glisează între filamentele groase fixe, astfel că banda I se scurtează.

chiar complet, atunci cînd filamentele de actină se ating în zona mediană a sarcomerului (fig. 9.8). Glisarea filamentelor de actină față de cele de miozină este uneori posibilă numai dacă porțiunea de capăt a moleculelor de miozină formează punți transversale („cross bridges") între filamentele de actină și cele de miozină (fig. 9.9).

În detaliu prezentate, procesele au loc astfel : capetele moleculei de miozină, în prezența $Mg^{2+}$, au o puternică tendință de a lega ATP-ul celular. Complexul ATP-miozină trece într-o formă intermediară activă, care prezintă o mare afinitate față de molecula de G-actină a filamentelor subțiri, cu care se cuplează (fig. 9.10). Astfel apar *complexe actomiozinice* bogate în energie, cu acțiune ATP-azică.

Imediat ce s-a format un astfel de complex, ATP-ul legat de el se scindează, în decurs de aproximativ 1/100 s, în ADP și fosfat anorganic ($P_a$), eliberînd energie. Capetele moleculei de miozină, fără să piardă legătura lor cu actina, se înclină sub un unghi de aproximativ 45° în direcția zonei mediane a sarcomerului. Prin aceasta, filamentul de actină se deplasează cu circa 100 Å în direcția zonei mediane a sarcomerului, printre filamentele de miozină.

Detașarea capetelor de miozină de pe molecula de actină (trecerea în complex actomiozinic sărac în energie) poate avea loc numai cînd va fi realizată o nouă legătură cu o altă moleculă de ATP, ceea ce în celula vie

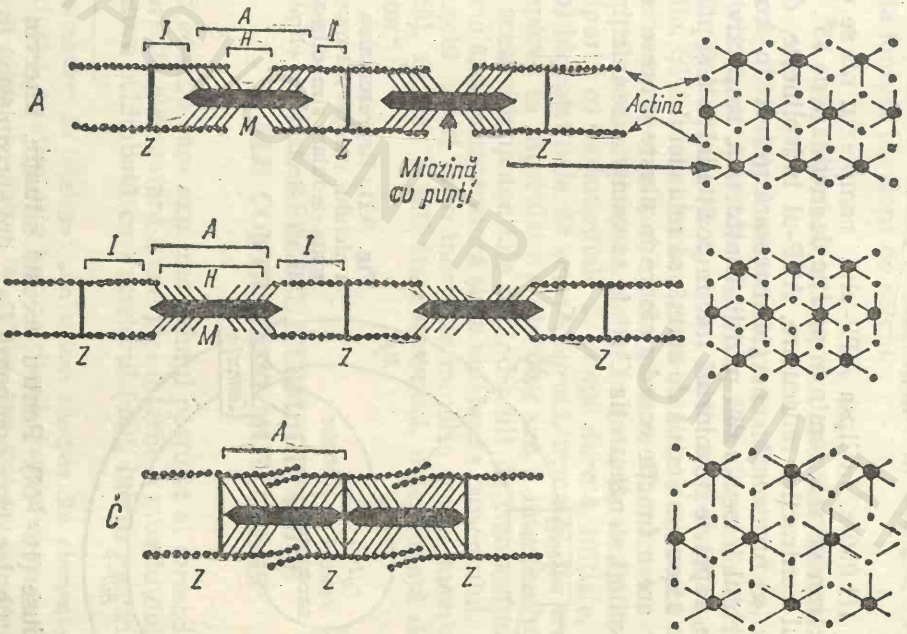



Fig. 9.8. Diagrama structurii fine a sarcomerului mușchiului în secțiune longitudinală și transversală, arătînd filamentele de miozină cu capetele lor proeminente și structura „în perle" a filamentului de actină. Lungimea sarcomerului a fost redusă de 10 ori față de grosimea filamentului, pentru a ușura desenarea : *A* — sarcomere aproape de lungimea de repaus ($l_0$=2,4 m pe sarcomer) ; *B* — sarcomerele după alungirea lor la 1,3 $l_0$ ; *C* — sarcomere contractate la 0,6 $l_0$. Se observă cum capetele de miozină sînt desenate sub un unghi spre liniile *Z*, poziție în care ele ar putea să exercite acțiune maximă de tracțiune.

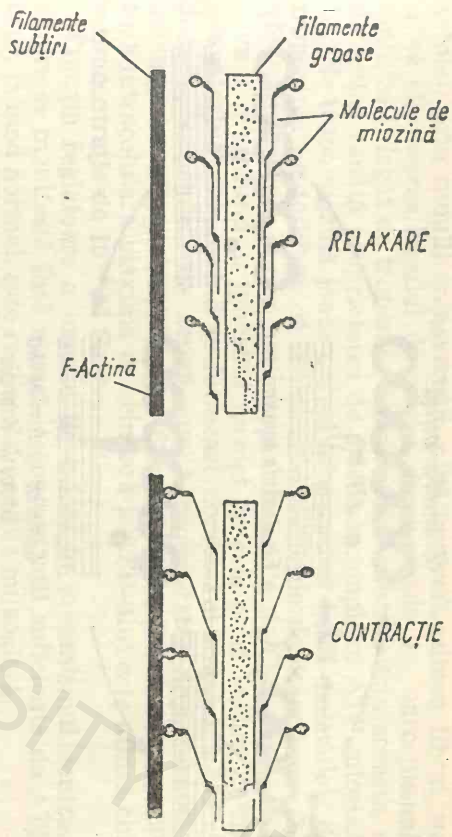



Fig. 9.9. Schemă privind precizarea rolului capetelor moleculei de miozină (a se observa forma de croșă de hochei), ca punți transversale („cross bridges"), în contracția musculară.

BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

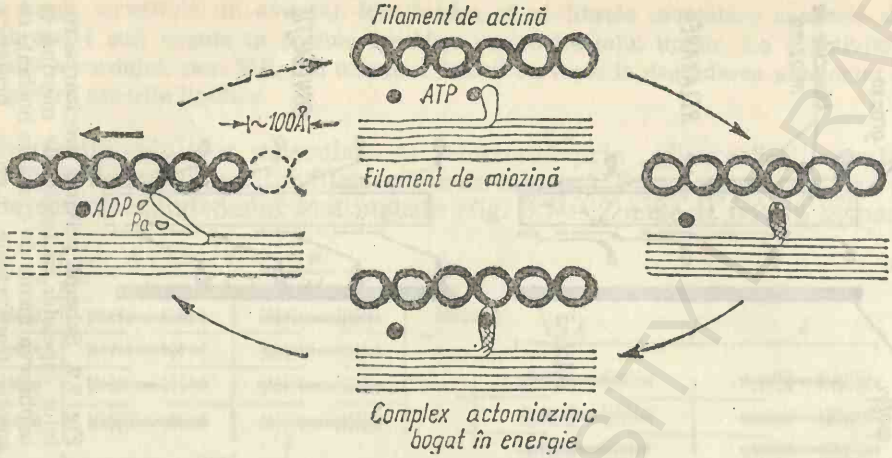



Fig. 9.10. Schema probabilă a deplasărilor moleculare în timpul contracției musculare.

se petrece după 1/1 000 s. În lipsa ATP-ului complexul nu se detașează, astfel că punțile transversale rămîn în poziția de înclinare de 45°.

În mecanismul contracției musculare, ATP-ul îndeplinește, deci, două funcții de bază : *a)* furnizează energia necesară (efect în contracție) ; *b)* menține mușchiul într-una din poziții (contractată, respectiv relaxată).

După detașare, capetele de miozină trec în poziția inițială și pot, printr-o nouă legătură cu o nouă moleculă de actină, să reia ciclul.

Ionul de $Ca^{2+}$ are o funcție coordonatoare în aceste procese (fig. 9.11). La mușchii neexcitați, concentrația $Ca^{2+}$ în sarcomer este menținută în li-

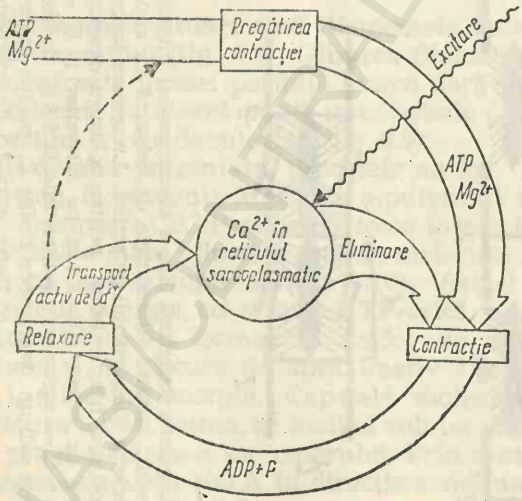



Fig. 9.11. Reprezentarea schematică a ciclului contracției musculare. Săgeata ondulată simbolizează o excitație, care declanșează eliminarea $Ca^{2+}$.

mite relativ reduse ($10^{-7}$ M). Pentru această situație, intervin veziculele sistemului sarcotubular, care pompează $Ca^{2+}$ din sarcoplasmă în reticul. În urma excitării, curentul de acțiune exercită o depolarizare de la suprafața

celulei, prin tubulii transversali, pînă în profunzimea fibrei, unde determină eliminarea ionului de calciu din vezicule în sarcoplasmă. Calciul ionic va fi legat de troponina filamentelor subțiri. Prin aceasta, moleculele de actină capătă proprietatea de a forma complexe ATP-miozină. Moleculele de tropomiozină joacă un rol intermediar între moleculele de actină și troponină. Se înțelege că moleculele filiforme de tropomiozină, care se găsesc peste cele aproximativ șapte molecule de G-actină, se vor deplasa ceva mai profund în jgheabul format de cele două lanțuri de molecule de actomiozină, atunci cînd se formează complexul troponină — $Ca^{2+}$ și, prin aceasta, moleculele de actină capătă proprietatea de a forma complexe actomiozinice bogate în energie. Consecința va fi scindarea ATP-ului. Viteza intracelulară maximă de scindare a ATP-ului este atinsă chiar pentru o concentrație de $10^{-6}$ M $Ca^{2+}$.

Funcția reglatoare a ionului de calciu în mecanismul contracției musculare se manifestă însă numai la concentrații suficiente de ATP, condiție care, în mod normal, este realizată în celula musculară.

Legarea ATP-ului eliberat de pe capetele de miozină cu actina, adică formarea complexelor actomiozinice sărace în energie, este independentă de prezența ionului bivalent de calciu.

### 9.2.1. CONTRACȚIA MUSCULATURII NETEDE

Studiile de microscopie electronică au arătat că în celulele musculare netede există două tipuri de filamente, fără dispoziție la fel de precisă ca în cazul fibrelor striate, și din acest motiv nu pot fi semnalate striații transversale. Și în cazul musculaturii netede se acceptă ipoteza conform căreia fenomenul se realizează prin glisarea filamentelor contractile.

Biopotențialele de acțiune care apar în acest tip de celule musculare sînt de două tipuri : *a)* biopotențiale *de lungă durată,* inițiale, de tipul celui cardiac ; *b)* biopotențiale *de scurtă durată,* urmate de trasee prelungite care pot apărea în musculatura uterului sau a intestinului gros. Talia și frecvența acestor biopotențiale depind mult de compoziția ionică sau de cea hormonală, de temperatură și de tensiunea mușchiului.

Unii mușchi netezi au o inervație motorie (cazul membranei nictitante de la pisică), alții au o activitate spontană, determinată de activitatea de „pace-maker“ [1].

## 9.3. ASPECTE TERMODINAMICE ALE CONTRACȚIEI MUSCULARE

Aplicînd ecuația care exprimă primul postulat al termodinamicii, putem scrie că variația elementară a energiei interne a mușchiului ($dU$) este suma dintre căldura schimbată cu exteriorul ($dQ$), lucrul mecanic ($dL$) efectuat

[1] Prin *„pace-maker“* se înțelege : „un sistem compus din elemente avînd o funcționare autoritmică, în stare de a impune ritmul propriu, dominant, altor sisteme sau elemente cu care se găsesc în relație, care sînt sau nu autoritmice ele însele“ (Fessard).

în exterior prin scurtarea cu ($dl$) la o încărcare mecanică a mușchiului constantă ($F$) $dL=F\cdot dl$, precum și variațiile de energie datorate schimburilor chimice ($dU_{ch}$) :

$$dU=dQ+Fdl+dU_{ch}.$$

Pentru un mușchi izolat, care nu are schimburi de substanțe cu exteriorul $dU_{ch}=0$, astfel încît :

$$dU_{F=ct}=dQ_{F=ct}+F\cdot dl.$$

În mod evident, atît lucrul mecanic pe care un mușchi îl poate efectua, cît și căldura degajată depind de încărcarea sa ($F$). Sub o încărcare $F_0$ pe care nu o mai poate deplasa, mușchiul efectuează contracția izometrică ($l=$constant ; $dl=0$), în care caz variația energiei interne este exprimată numai de căldura degajată în exterior :

$$dU_{l=ct}=dQ_{l=ct}.$$

Făcînd diferența dintre variațiile de energie în contracția izotonică și izometrică și raportînd la unitatea de timp, avem :

$$\frac{d}{dt}(U_{F=ct}-U_{l=ct})=\frac{d}{dt}(Q_{F=ct}-Q_{l=ct})+\frac{F\cdot dL}{dt}.$$

Membrul stîng al acestei relații reprezintă viteza de variație a energiei interne a unui mușchi în contracție izotonică, în exces față de contracția izometrică, și îl notăm cu $dU/dt$. Analog, în membrul drept, avem intensitatea degradării de căldură în exces față de contracția izometrică și lucrul mecanic efectuat în unitatea de timp $dL/dt$, adică puterea. În figura 9.12 este reprezentată dependența acestor mărimi de încărcare a mușchiului, dintr-un astfel de grafic putîndu-se găsi încărcarea la care randamentul producerii de lucru mecanic de către mușchi este maxim. Se observă că aceasta corespunde cu aproximativ 30% din greutatea pe care mușchiul nu o mai poate deplasa.

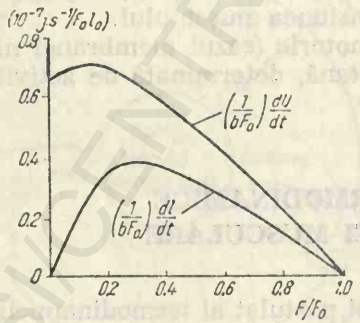



Fig. 9.12. Intensitatea producerii de lucru mecanic și de căldură într-un mușchi în contracție izotonică, în exces față de contracția izometrică.

Deoarece puterea mecanică pe care o poate efectua un mușchi este produsul dintre încărcare și viteza de contracție :

$$P=dL/dt=F\cdot dl/dt=F\cdot v.$$

Este important de cunoscut dependența acestor două mărimi, deci modul în care viteza de contracție a mușchiului depinde de încărcare.

Studiind corelația acestor mărimi, A. V. Hill a stabilit, prin analiza datelor experimentale, relația :

$$(F+a)\,(v+b)=\text{const.}=(F_0+a)b.$$

În această relație $F_0$ este încărcarea la care mușchiul nu se mai poate contracta, $a$ este o constantă cu dimensiuni de forță, iar $b$ este o constantă cu dimensiuni de viteză. Toți cei trei parametri : $a$, $b$, $F_0$ sînt caracteristici proprii fiecărui mușchi. Din relația precedentă, viteza de contracție este :

$$v=(F_0-F)b/(F+a).$$

Se vede că $v$ are valoarea maximă $v_0=F_0\cdot b/a$, atunci cînd mușchiul se contractă liber.

Dependența vitezei de contracție de gradul de încărcare își păstrează forma de mai sus pentru diferite lungimi inițiale ale mușchiului fie mai mici, fie mai mari decît lungimea „in situ" $l_0$, așa cum se vede din figura 9.13, ceea ce diferă fiind valoarea tensiunii izometrice $F_0$ și deci și a vitezei de contracție liberă $v_0$.

În cazul unei analize mai detaliate decît este locul în acest context, toate caracteristicile experimentale ale energeticii contracției, prezentate în acest paragraf, pot fi corelate atît cu mecanismul întrepătrunderii filamentelor, cît și cu metabolismul mușchiului.

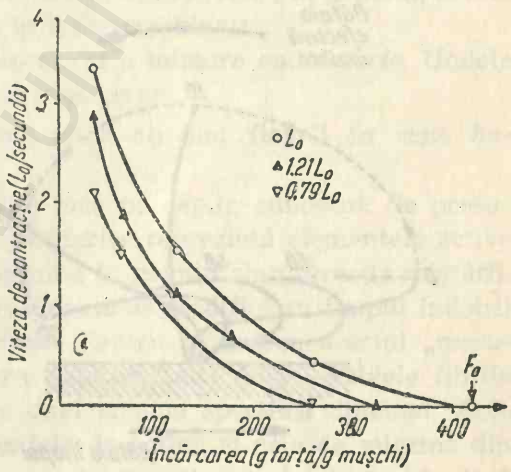



Fig. 9.13. Dependența vitezei de contracție a unui mușchi striat de încărcarea sa, pentru trei lungimi inițiale.

Din ultimele cercetări întreprinse de K. A. P. Edman și colab., care au studiat mecanismul contracției sarcomerului prin difracție laser, reiese că „mecanismul glisant" al acestui fenomen, care este contracția și relaxarea mușchiului, trebuie parțial reconsiderat. Edman a demonstrat că, în faza de contracție, unele filamente care nu cuplează $Ca^{2+}$ și, deci, nu pot fixa molecula de ATP, rămîn în stare de relaxare. În timpul fazei de relaxare a sarcomerului pot fi întîlnite filamente de actină care să fixeze $Ca^{2+}$ și, prin aceasta, să poată cupla molecula de ATP, determinînd, individual, o reacție de migrare către zona mediană a sarcomerului. În concluzie, observăm că reactivitatea miofilamentelor în fazele de activi-

tate ale sarcomerului nu este absolută și, din acest punct de vedere, trebuie reconsiderată parțial și teoria contracției musculare, în consecință și bioenergetica contracției.

## 9.4. MIȘCAREA PRIN CILI, FLAGELI ȘI AMIBOIDALĂ

Cilii și flagelii sînt diferențieri filiforme citoplasmatice, care apar la suprafața diferitelor celule. Aceste formațiuni manifestă în mod periodic (sau neregulat) mișcări, care vor favoriza apariția unor curenți (de exemplu, agitarea maselor de apă în vederea realizării schimburilor respiratorii sau asigurării hranei), sau vor determina o formă de locomoție.

Flagelii sînt formațiuni mai lungi decît cilii și, de regulă, mai puțini la număr. Cilii, din contră, sînt în număr foarte mare și se găsesc dispuși sub formă de șiruri, benzi sau falduri. Alcătuirea structurală a acestor formațiuni este, în principiu, asemănătoare.

În partea centrală a acestor organite se găsesc două *fibrile* înconjurate de un înveliș comun, care sînt însoțite la periferie de nouă fibrile duble (fig. 9.14). Una din componentele fiecărei duble fibrile, o *subfibrilă*, prezintă două prelungiri scurte îndreptate în sensul de mișcare al acelor de

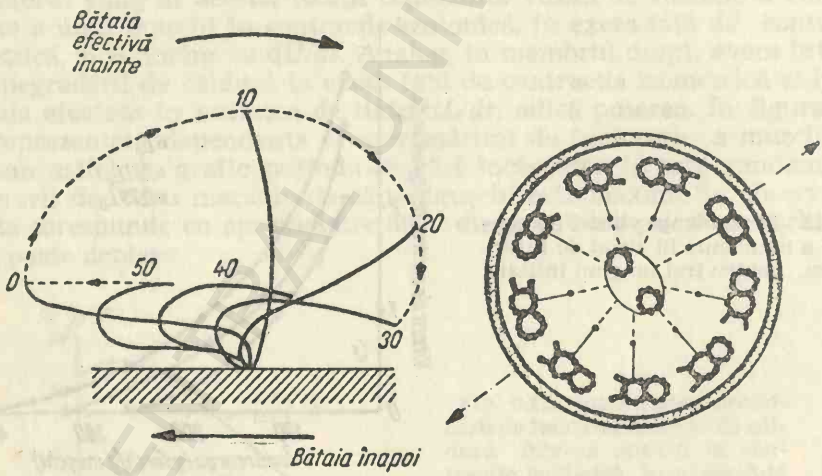



Fig. 9.14. *În stînga* : reprezentarea unui cil în șase stadii consecutive ale ciclului de mișcare. Numerele indică timpul (în milisecunde) de la debutul mișcării. *În dreapta* : secțiune transversală printr-un cil. Mișcarea cilului se realizează într-un unghi drept față de planul în care se găsesc cele două filamente centrale (prin linie punctată este reprezentată direcția de mișcare a cilului).

ceasornic, către următoarea dublă fibrilă (structura este privită de la bază către vîrf). Fiecare dintre aceste prelungiri scurte este formată dintr-o moleculă proteică — *dineină* (asemănătoare miozinei musculare), care, în prezența $Ca^{2+}$, scindează ATP-ul și pune în libertate energie. Peretele fibrilelor este format din altă proteină numită *tubulină*, care, prin catenele

de acizi aminici pe care le conține, seamănă cu actina celulelor musculare. La vîrful și la baza cililor, prelungirile de dineină lipsesc. Fibrilele sînt încorporate în substanța de bază, care este protejată la exterior de membrana cilului. Ambele fibrile centrale ocupă o poziție perpendiculară pe planul de mișcare a cilului.

La baza cilului, în citoplasma celulei, se află un corpuscul bazal — *chinetozomul*. Fibrilele centrale se prelungesc, de regulă, pînă la această formațiune. Structura chinetozomului se aseamănă cu aceea a centriolului celular.

Mișcarea cililor și flagelilor este destul de rapidă. Cercetările stroboscopice și cele de microcinematografie au arătat că formele de mișcare nu sînt asemănătoare. Cel mai simplu gen de mișcare este reprezentat de *mișcarea înainte-înapoi*, într-un singur plan. Se pot deosebi trei tipuri de bază ale mișcării :

— la *mișcarea pendulară*, cilul se încovoaie numai de la bază. Loviturile înainte și înapoi se deosebesc din punct de vedere al vitezei. Prima formă este mai rapidă, iar a doua mai lentă ;

— la *mișcarea de biciuire*, îndoirea începe de la vîrful spre baza cilului și este urmată de o mișcare de întoarcere în sens invers ; în general, aceste prime două forme de mișcări pot fi întîlnite combinate ;

— la mulți dintre flageli se întîlnește și o *mișcare ondulatorie*. Undele pornesc fie de la bază spre vîrf, fie în sens invers.

Mult mai complicată este mișcarea unor cili sau flageli în sens *helicoidal*.

Mecanismul mișcării cililor nu este încă pe deplin cunoscut. Se presupune că cele nouă duble-filamente periferice reprezintă elementele active și că cele două fibrile centrale determină în primul rînd direcția mișcării. Există dovezi cum că lungimea fibrilelor nu se modifică în timpul îndoirii cililor, ele glisînd unele față de altele. Pentru realizarea acestui „mecanism glisant", un rol deosebit îl are interacțiunea dintre dublele fibrile vecine, materializată prin prezența unei enzime specifică dineinei. Asemănarea interacțiunii dintre filamentele de actină și cele de miozină din contracția mușchilor striați și mecanismul funcțional al cililor este însă forțată.

În ansamblul lor funcțional, cilii unei celule pot să prezinte mișcările în aceeași fază — *cili izocroni*, sau în fază diferită — *cili metacroni*.

În toate celulele au loc mișcări citoplasmatice mai mult sau mai puțin semnificative. De multe ori însă, aceste mișcări servesc pentru asigurarea locomoției sau a hrănirii celulare. În acest caz, celula formează prelungiri — *pseudopode* — a căror poziție se găsește într-o permanentă mișcare și schimbare. Deoarece pseudopodele sînt specifice mișcării amibelor, această deplasare se numește *mișcare amiboidală*.

Unele cercetări au arătat că la formarea pseudopodelor participă proteine filamentoase contractile care provin din ectoplasmă. Studii electronooptice au permis să se observe că pseudopodele sînt formate din : filamente subțiri de *F-actină* (50—80 Å) și filamente groase de *miozină* (160 Å).

Este posibil ca și în acest caz să avem de-a face, ca și la celula musculară, cu un „mecanism glisant" de interacțiune între elementele structurale.

**BIBLIOGRAFIE**


Davies, R. E. *On the Mechanism of Muscular Contraction.* În : „Essays in Biochemistry", Academic Press, New York, 1965.

Edman, K. A. P. *Cross-Bridge Mechanism in Muscle Contraction.* Univ. of Tokyo Press, 1979.

Hasselbach, W. *Muskel. Urban und Schwarzenberg.* München, 1971.

Huxley, H. E. *The mechanism of muscular contraction.* În : „Science", nr. 164, 1969.

Laskowski, W. și Pohlit, W. *Biophysik,* vol. 2. Georg Thieme, Stuttgart, 1974.

Lehninger, A. *Bioenergetik.* Georg Thieme, Stuttgart, 1974.


BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

## Partea a treia

# ELEMENTE DE BIOFIZICĂ A FACTORILOR AMBIANŢI

Studiul efectelor exercitate asupra organismelor de către factorii mediului ambiant este unul dintre obiectivele principale ale tuturor disciplinelor biologice. În particular, biofizica se ocupă de efectele factorilor fizici asupra sistemelor biologice, tinzînd să clarifice modul în care variaţiile diferiţilor parametrii fizici ai mediului influenţează viaţa organismelor. Ca şi în cazul problemelor discutate în capitolele precedente, şi în ceea ce priveşte efectele factorilor fizici biofizica abordează fenomenele care au loc în organisme la nivel molecular, supramolecular şi celular, oferind astfel baza explicativă a fenomenelor biologice de nivel superior ce se desfăşoară sub influenţa respectivilor factori.

În cele ce urmează ne vom referi mai întîi la doi dintre factorii fizici de importanţă primordială pentru biosferă : *temperatura* şi *radiaţiile electromagnetice neionizante* (în primul rînd lumina), iar apoi vom studia *radiaţiile ionizante*, a căror utilizare pe scară din ce în ce mai largă conferă un interes evident cunoaşterii efectelor lor biologice. Studiul unei întregi serii de alţi factori fizici care influenţează în mod natural viaţa organismelor (presiunea, cîmpurile magnetic şi gravitaţional terestru) sau la care organismele pot fi expuse în mod artificial (microunde, ultrasunete, curenţi electrici) fie nu a ajuns încă la maniera cantitativă şi explicativă proprie biofizicii, fie este de importanţă predominant medicală. Atît din aceste motive, dar mai ales datorită timpului acordat în prezent acestei discipline, ne vom limita la studierea factorilor menţionaţi.

# 10

## INFLUENȚA TEMPERATURII ASUPRA SISTEMELOR BIOLOGICE

Temperatura este o caracteristică a mediului fizic ambiant, care influențează în mod foarte evident desfășurarea tuturor fenomenelor biologice, fiind o determinantă esențială a vieții. Datorită acestui fapt, efectele temperaturii sînt studiate, la diferite nivele, în cadrul problemelor de ecologie, de fiziologie animală și vegetală și chiar în cadrul diferitor discipline de botanică și zoologie. În contextul biofizicii, vom analiza numai procesele care au loc la nivel molecular și supramolecular, sub influența variațiilor de temperatură și prin care acestea modifică starea funcțională a celulelor.

Toate celulele sînt expuse la variații de temperatură ale mediului lor ambiant, dar amplitudinea acestor variații diferă în funcție de condițiile în care trăiește respectivul organism. Astfel, datorită căldurii specifice mari a apei (v. *4.1.2*), temperatura maselor mari de apă variază mult mai puțin decît a zonelor continentale, așa încît organismele marine sînt confruntate cu variații de temperatură mici în comparație cu organismele care trăiesc pe uscat sau în rîuri și lacuri. Ca un exemplu extrem, notăm faptul că temperatura apei de sub calota de gheață din Antarctida variază cu cel mult 0,1 °C.

Pentru majoritatea organismelor, intervalul de temperaturi la care se desfășoară activitățile metabolice celulare, numit *zonă biocinetică*, este între 10 și 45 °C. Există însă *organisme termofile* care trăiesc la temperaturi mai mari de 45 °C și *organisme criofile* care se dezvoltă optim la temperaturi sub 10 °C. În afară de aceasta, celulele organismelor în stare de hibernare și, mai ales, formele rezistente ale diferitor organisme (sporii bacteriilor și plantelor inferioare, chiștii protozoarelor și ai unor nevertebrate, precum și celulele din semințele plantelor superioare etc.) pot suporta temperaturi mult în afara zonei biocinetice.

Unele alge, ciuperci și bacterii termofile trăiesc în izvoarele termale la temperaturi în jur de 90 °C (algele *Phormidium*) ; pe de altă parte, peștii

și nevertebratele polare trăiesc la temperaturi în jur de 0 °C, așa încît se poate afirma că unele forme de viață sînt posibile la orice temperatură la care apa celulară rămîne în stare lichidă.

## 10.1. EFECTUL TEMPERATURII ASUPRA TRANSFORMĂRILOR MOLECULARE

La nivel atomo-molecular, orice transformare înseamnă trecerea dintr-o stare caracterizată printr-o anumită valoare a energiei respectivei particule în altă stare, trecere care se face prin depășirea unei bariere energetice, adică numai atunci cînd particula ce suferă transformarea capătă un surplus de energie — *energia de activare* (fig. 10.1). Această imagine asupra desfășurării proceselor la nivel atomo-molecular este valabilă atît pentru transformările chimice (de tipul $A+B \rightarrow AB$ sau $A+BC \rightarrow AB+C$ etc.), cît și pentru procesele fizice (de tipul difuziei, al ionizării etc.), cu atît mai mult cu cît la nivelul interacțiunilor atomo-moleculare distincția între „chimic" și „fizic" este adesea arbitrară.

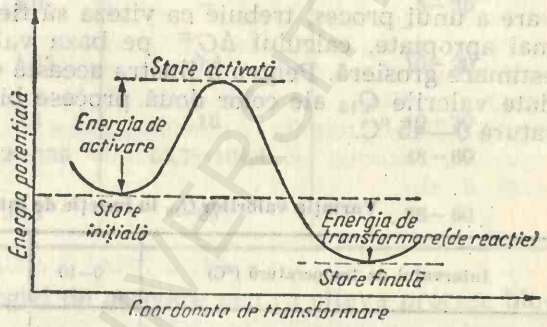



Fig. 10.1. Diagrama energiei potențiale a particulelor (atomi, molecule) în cursul unei transformări.

Numărul de molecule care pot avea, datorită agitației termice, surplusul de energie reprezentînd energia de activare este cu atît mai mare, cu cît temperatura este mai ridicată, deoarece și agitația termică este mai intensă. În cazul unei reacții chimice, viteza procesului depinde atît de concentrațiile reactanților, cît și de temperatură, prin intermediul *constantei de viteză (k)*:

$$k = k' \cdot T \cdot \exp.(-\Delta G^{\neq}/RT).$$

În această relație, $k'$ este o constantă independentă de temperatură, $T$ este temperatura (absolută), $\Delta G^{\neq}$ reprezintă valoarea energiei de activare exprimată ca entalpie liberă (v. *2.1.1* și *2.1.2*), iar $R$ este constanta molară a gazelor.

Pentru a se determina energia de activare a unui proces, se măsoară viteza de desfășurare a acelui proces la două temperaturi diferite. Este uzual ca efectul temperaturii să se exprime prin coeficientul $Q_{10}$, reprezentînd raportul vitezelor la două temperaturi diferind prin 10°.

$$Q_{10} = \frac{\text{Viteza procesului la (T+10) °K}}{\text{Viteza procesului la T °K}} = \frac{k_{T+10}}{k_T}.$$

Pe baza relației anterioare, rezultă :

$$Q_{10} = \frac{T+10}{T} \exp\left[\frac{\Delta G^{\neq}}{RT} - \frac{\Delta G^{\neq}}{R(T+10)}\right],$$

iar după cîteva calcule simple obținem :

$$\Delta G^{\neq} \approx RT \frac{T}{10} \ln Q_{10} - 1 \Big| ,$$

ceea ce arată că energia de activare a unui proces depinde aproximativ logaritmic de *coeficientul de temperatură* ($Q_{10}$) determinat experimental.

Atît coeficienții de temperatură ($Q_{10}$), cît și energiile de activare ale diferitor procese sînt puternic influențate de intervalul de temperatură la care sînt studiate, deoarece în urma unei variații mari de temperatură se modifică însăși natura componenților moleculari care participă la acestea. De aceea, pentru obținerea unor valori semnificative ale energiei de activare a unui proces, trebuie ca viteza să fie determinată la temperaturi cît mai apropiate, calculul $\Delta G^{\neq}$ pe baza valorilor $Q_{10}$ reprezentînd doar o estimare grosieră. Pentru a ilustra această dependență, în tabelul 10.1, sînt date valorile $Q_{10}$ ale celor două procese biologice în intervalul de temperatură 0—45 °C.

*Tabelul 10.1*

**Variația valorilor $Q_{10}$ în funcție de intervalul de temperatură**

| Intervalul de temperatură (°C) | 0—10 | 10—20 | 20—30 | 30—40 | 40—50 |
|---|---|---|---|---|---|
| Frecvența bătăilor inimii de pisică $Q_{10}$ | — | 5,40 | 2,15 | 1,85 | 1,35 |
| Viteza curenților protoplasmatici la *Valisneria* $Q_{10}$ | 4,0 | 2,3 | 1,6 | 1,3 | — |

Efectul temperaturii, exprimat prin valorile $Q_{10}$ și $\Delta G^{\neq}$, diferă foarte mult în funcție de natura procesului biologic considerat. Astfel, acele procese care implică în principal reacții chimice, cum ar fi respirația și diviziunea celulară, se caracterizează prin $Q_{10}$ cuprins între 2 și 4 ; procesele în care este implicată o schimbare a conformației spațiale a biopolimerilor (denaturare termică), așa cum este omorîrea prin căldură a celulelor, se caracterizează prin $Q_{10}$ de ordinul zecilor sau chiar al sutelor, iar procesele care implică difuzia moleculelor sau a ionilor, așa cum sînt pătrunderea pasivă a diferitelor molecule în celule sau conductibilitatea electrică a acestora se caracterizează prin valori ale $Q_{10}$ mai mici decît 2. Un caz interesant îl reprezintă acele procese biologice cum ar fi excitația vizuală și fotosinteza care, la nivel molecular, se bazează pe reacții fotochimice (v. *Capit. 11*). Deoarece probabilitatea ca o moleculă să capteze o cuantă de radiație nu este crescută în mod sensibil de agitația termică, creșterea temperaturii are un efect aproape neglijabil asupra unor procese ca fotosinteza sau fotoliza pigmenților vizuali, $Q_{10}$ fiind de aproximativ 1. Dacă însă iluminarea este puternică, astfel încît moleculele fotoabsorbante sînt saturate cu cuante de radiație, atunci variațiile de temperatură influențează viteza cu care energia radiantă este utilizată în reacții ulterioare captării cuantelor, astfel încît $Q_{10}$ pentru procesul de fotosinteză la iluminări intense depășește 2. În tabelul 10.2 sînt incluse valorile coeficien-

*Tabelul 10.2*

**Coeficienții de temperatură și energiile de activare ale unor procese biologice**

| Procesul biologic | $Q_{10}$ | $\Delta G^{\neq}$ (kcal/mol) | Domeniul de temperatură (°C) |
|---|---|---|---|
| Intensitatea fotosintezei la iluminare scăzută | 1,06 | 0,4 | 15–25 |
| Intensitatea fotosintezei la iluminare ridicată | 3–4 | 18,3–23,2 | 15–25 |
| Descompunerea retinalului la lumină | 1,0 | — | 5–36 |
| Conductibilitatea electrică a celulelor de *Laminaria* | 1,33 | 0,4 | 10–20 |
| Intensitatea respirației germenilor de mazăre | 2,4 | 16 | 10–20 |
| Omorîrea termică a bacteriilor | 12–136 | 52,7–104,4 | 48–60 |
| Omorîrea termică a leucocitelor de iepure | 28,8 | 69 | 38–60 |

tului de temperatură și ale energiei de activare pentru cîteva procese biologice reprezentative.

Merită subliniat și faptul că variațiile de temperatură nu influențează în mod uniform diferitele procese biologice, de exemplu ca prin creșterea temperaturii să se înregistreze o activare a lor, ci există una sau mai multe valori optime ale temperaturii la care intensitatea acelor procese prezintă maxime. Din punct de vedere biologic, se constată o strînsă corelație între aceste valori termice și caracteristicile adaptative ale organismelor respective, iar din punct de vedere fizic s-a încercat explicarea lor pe baza modificărilor de structurare a apei celulare, în special a celei din vecinătatea interfețelor.

## 10.2. EFECTELE NOCIVE ALE TEMPERATURILOR EXCESIVE

### 10.2.1. EFECTUL TEMPERATURILOR RIDICATE

Depășirea intervalului de temperatură care corespunde zonei biocinetice antrenează moartea rapidă a celulelor datorită denaturării termice a componenților celulari, adică degradării ireversibile a conformației spațiale ordonate a biopolimerilor (structurile secundară — cuaternară) și trecerii lor în conformația „ghem haotic" (v. fig. 10.2). Intensificarea mișcărilor moleculare, odată cu creșterea temperaturii, determină ruperea legăturilor de hidrogen și anularea celorlalte forțe slabe care mențin structurile de ordin superior ale biopolimerilor. Pierzîndu-și structura spațială nativă, proprie activităților celulare la care participă, biopolimerii își pierd în mod evident și funcțiile, ceea ce implică moartea celulară. În afara ADN, a cărui denaturare termică este schematizată în figura 10.2, acest proces

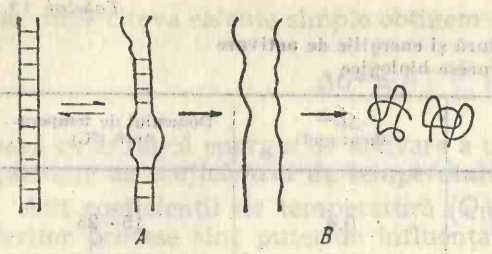



Fig. 10.2. Denaturarea termică reversibilă (*A*) și ireversibilă (*B*) a unei molecule bicatenare de ADN.

este foarte evident în cazul proteinelor cu rol de enzime, a căror modificare conformațională face să dispară locurile active, cu rol catalitic.

Cauza morții termice a celulelor este nespecifică, aceasta rezultînd din inactivarea termică atît a ADN, ribozomilor și enzimelor, cît și din dezorganizarea sistemelor membranare. Observîndu-se că termorezistența unui organism se asociază cu un punct de topire crescut al principalelor sale lipide și că punctul de topire al lipidelor din animalele poikiloterme, adaptate la temperaturi ridicate, este mai mare decît la indivizii martor din aceeași specie, s-a tras concluzia că efectul letal al temperaturilor ridicate poate proveni din ruperea sistemelor membranare, ca urmare a „topirii" dublului strat lipidic.

### 10.2.2. EFECTUL TEMPERATURILOR SCĂZUTE

Încetinirea activităților celulare odată cu scăderea temperaturii face ca, la limita inferioară a temperaturilor pe care o celulă le poate tolera, aceasta să devină practic inactivă, deși supraviețuiește. Pentru ca o celulă mezofilă (care trăiește la temperaturi medii din zona biocinetică) să nu își înceteze metabolismul la temperaturi scăzute, apropiate de 0 °C, este necesară o astfel de adaptare termică, încît reacțiile enzimatice să se poată desfășura cu viteză comparabilă cu aceea de la temperatura obișnuită. Această adaptare se realizează în special prin sinteza de enzime similare (izoenzime), avînd o afinitate crescută față de respectivul substrat.

*Răcirea lentă.* Pe măsură ce un organism (sau organ, țesut) este răcit lent, la temperaturi sub 0 °C, apa îngheață în afara celulelor, concentrînd astfel fluidul extracelular. Apa citoplasmatică iese din celulă datorită tendinței de egalare a concentrației, pe această cale putînd ieși pînă la 90% din apa celulară liber difuzibilă. Concentrarea citoplasmei coboară punctul ei de îngheț, cristalele de gheață apărînd în interiorul celulelor numai la temperaturi sub —40 °C (în cazul răcirilor lente).

*Înghețarea rapidă* duce la formarea cristalelor de gheață atît în exteriorul, cît și în interiorul celulelor. Aceste cristale rup structurile citoplasmatice și nucleare, ceea ce cauzează moartea celulară. S-au observat ruperi evidente ale membranelor endoplasmatice, mitocondriilor și a celor plasmatice. De asemenea, este posibil ca înghețarea să acționeze și asupra enzimelor, deoarece concentrațiile saline crescute apărute în citoplasmă determină ruperea moleculelor proteice în subunități care, la reîncălzire, dau polimeri „anormali", lipsiți de proprietățile catalitice inițiale. În sfîrșit, în cursul dezghețării, și în special dacă aceasta este lentă, denaturarea proteinelor se accentuează, deoarece ele sînt în contact cu o concentrație crescută de electroliți la o temperatură mai ridicată decît aceea din timpul înghețării.

Efectele nocive ale formării de cristale de gheață în celule sînt înlăturate prin folosirea de substanțe crioprotectoare, dintre care cea mai importantă este *glicerolul*. El pătrunde în celule și coboară punctul de îngheț atît al fluidului extracelular, cît și al celui citoplasmatic. Datorită capacității sale ridicate de a forma legături de hidrogen cu apa, glicerolul facilitează formarea de rețele moleculare care se dezvoltă progresiv în jurul macromoleculelor proteice și împiedică formarea de cristale mari care ar leza celula. Utilizarea substanțelor crioprotectoare permite conservarea timp îndelungat a unor țesuturi (de exemplu, corneea), în vederea transplantării lor, sau a spermei, cu care se efectuează fecundarea artificială.

Trebuie remarcat faptul că glicerolul este crioprotectorul ideal și pentru că el este un intermediar normal din metabolismul lipidic al mamiferelor. Unele organisme în stadiu de larvă sau pupă pot suporta temperaturi foarte scăzute (în jur de —35 °C), datorită unei acumulări de glicerol pînă la 25% din greutatea lor. Revenind la temperaturi normale, aceste organisme își continuă metamorfoza, transformînd glicerolul în glicogen.

**BIBLIOGRAFIE**


Dimoftache, C., Portelli, C. Capit. 15.8 din *Biofizica medicală* (sub red. Prof. V. Vasilescu). Editura didactică și pedagogică, București, 1977.

Giese, A. C. *Cell Physiology*, Ch. 10. W. B. Saunders, Philadelphia, 1973.

Hardy, R. N. *Temperature and Animal Life*. E. Arnold, London, 1972.

Picoș, C. *Viața la temperaturi extreme*. Editura științifică și enciclopedică, București, 1977.

# 11

# RADIAȚII ELECTROMAGNETICE NEIONIZANTE ȘI EFECTELE LOR BIOLOGICE

Dintre caracteristicile fizice ale mediului ambiant, pe primul loc, din punct de vedere al importanței pentru organisme, se situează radiațiile electromagnetice, deoarece, așa cum s-a arătat la discutarea problemelor de bioenergetică, lumina reprezintă sursa primară de energie a întregii biosfere. În afară de aceasta, pentru toate organismele animale superioare și, în modul cel mai evident pentru om, lumina constituie suportul fizic al celei mai mari cantități de informație senzorială pe baza căreia își orientează viața. Pe de altă parte, unele radiații electromagnetice, atît existente în natură cît și produse artificial, pot reprezenta fie un factor cu utilitate în biologie și medicină, fie un factor de risc. Datorită acestor motive, cunoașterea efectelor radiațiilor electromagnetice asupra sistemelor biologice este un obiectiv important al biofizicii.

## 11.1. NATURA ȘI CARACTERISTICILE FIZICE ALE RADIAȚIILOR ELECTROMAGNETICE

Radiația electromagnetică reprezintă forma de propagare în spațiu a energiei unui cîmp electric ($\vec{E}$) și a unuia magnetic ($\vec{B}$), care oscilează cu aceeași perioadă ($T$) sau frecvență ($\nu$) în planuri perpendiculare unul pe celălalt și care sînt amîndouă perpendiculare pe direcția de propagare (fig. 11.1).

În ceea ce privește natura radiațiilor electromagnetice, în prezent este unanim acceptat caracterul dualist al acestora : ele reprezintă atît *unde* (adică propagarea în spațiu a unei mișcări oscilatorii), cît și corpusculi — *fotoni*, a căror energie și impuls sînt proprii pentru fiecare radiație. Subliniem faptul că *orice radiație electromagnetică este, simultan, atît undă cît și corpuscul*, dar că în diferite fenomene se manifestă cu precădere

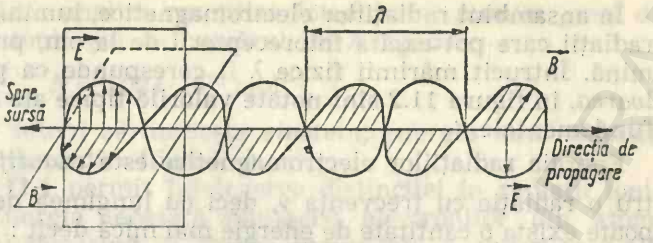



Fig. 11.1. Dispunerea cîmpului electric ($\vec{E}$) și a celui magnetic ($\vec{B}$) față de direcția de propagare într-o undă electromagnetică.

fie unul, fie celălalt aspect. Astfel, toate fenomenele legate de propagarea radiației electromagnetice (reflexie, refracție, interferență, difracție, polarizare) pot fi înțelese referindu-ne la *unde*, care provin de la o sursă, în timp ce pentru explicarea interacțiunii radiațiilor electromagnetice cu substanța (efect fotoelectric, reacții fotochimice, împrăștierea radiațiilor) se impune considerarea aspectului corpuscular, deci referirea la un flux de *fotoni*.

Principalele caracteristici ale oricărei unde sînt : *perioada* (timpul $T$ în care se efectuează o oscilație completă), *frecvența* (numărul $\nu$ de oscilații complete efectuate în unitatea de timp), *viteza* ($v$) cu care unda se propagă printr-un mediu oarecare și *lungimea de undă*, adică distanța $\lambda$ parcursă în timp ce se efectuează o oscilație completă. Din aceste definiții rezultă imediat atît unitățile de măsură, cît și relațiile între mărimile enumerate :

$$\nu = 1/T\ ;\ \lambda = v \cdot T = \frac{v}{\nu}$$

$$\langle T \rangle_{SI} = \mathrm{s}\ ;\quad \langle \nu \rangle_{SI} = \mathrm{s^{-1}} = \mathrm{Hz}\ ;\quad \langle v \rangle_{SI} = \mathrm{m/s}\ ;\quad \langle \lambda \rangle_{SI} = \mathrm{m}.$$

În cazul propagării în vid, toate radiațiile electromagnetice au aceeași viteză (notată cu $c = 2{,}997925 \cdot 10^8$ m/s $\approx 3 \cdot 10^8$ m/s), dar la trecerea dintr-un mediu în altul atît viteza, cît și lungimea de undă a radiațiilor se schimbă, ceea ce rămîne constant fiind frecvența, deci și perioada oscilațiilor, deoarece acestea sînt caracteristici ale sursei și nu ale mediului de propagare.

Radiațiile electromagnetice au lungimi de undă de la aproximativ $10^3$ m pînă la $10^{-15}$ m, dar atît proprietățile lor fizice, cît și efectele biologice (și, evident, utilizările practice) sînt foarte diferite, în funcție de domeniul de lungimi de undă corespunzător. În figura 11.2 sînt enumerate diferitele tipuri de radiații electromagnetice, după lungimea lor de undă.

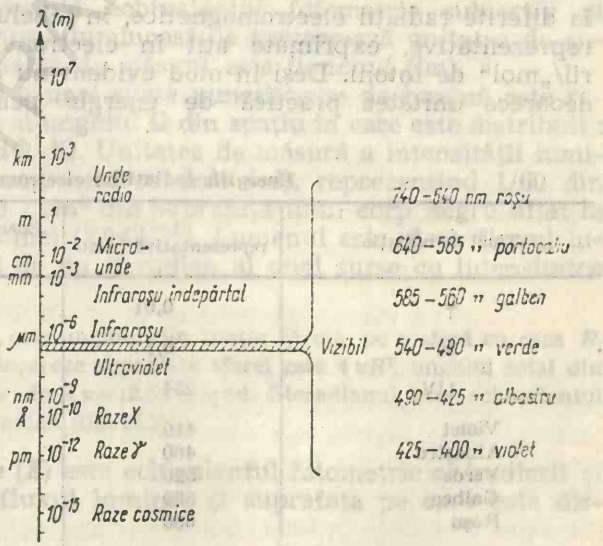



Fig. 11.2. Tipurile de radiații electromagnetice în funcție de lungimea de undă în vid.

În ansamblul radiațiilor electromagnetice, lumina reprezintă numai acele radiații care pot excita fotoreceptorii de la om, producînd senzația de lumină. Întrucît mărimii fizice $\lambda$ îi corespunde ca parametru subiectiv *culoarea*, în figura 11.2 sînt notate valorile tipice ale $\lambda$ caracteristice culorilor fundamentale.

Energia radiațiilor electromagnetice este *cuantificată*, în sensul că pentru o radiație cu frecvența $\nu$, deci cu lungimea de undă în vid $\lambda = \frac{c}{\nu}$, nu poate exista o cantitate de energie mai mică decît :

$$E = h \cdot \nu = h \cdot c/\lambda,$$

unde $h = 6{,}626 \cdot 10^{-34}$ J·s și reprezintă o constantă universală *(constanta lui Planck)*. Depinzînd de aplicațiile practice concrete în care intervine energia cuantelor de radiație, constanta lui Planck poate fi exprimată și în electronvolți·secundă ($1\ \text{eV} = 1{,}6 \cdot 10^{-19}$ J), sau în kilocalorii·secundă ($1\ \text{kcal} = 4{,}187 \cdot 10^{3}$ J) :

$$h = 0{,}414 \cdot 10^{-14}\ \text{eV} \cdot \text{s} = 1{,}584 \cdot 10^{-37}\ \text{kcal} \cdot \text{s}.$$

Faptul că energia oricărui flux de radiații cu lungimea de undă $\lambda$ este un multiplu întreg al cuantei de energie $hc/\lambda$, sugerează că un flux de radiații electromagnetice reprezintă un flux de particule — *fotoni*, avînd fiecare o cuantă de energie. În afară de energia $E = h\nu$, un foton posedă și impulsul $p = h/\lambda$, ceea ce face ca radiația electromagnetică, și în particular lumina, să exercite o anumită presiune asupra corpurilor. Acest „efect mecanic" al radiațiilor nu are însă vreo semnificație biologică precizată și, ca atare, nu ne vom referi la el. Întrucît interacțiunile radiațiilor cu substanțele, deci și cu sistemele biologice, depind de energia lor, aceste interacții sînt analizate drept efecte ale fotonilor respectivi.

Pentru a ilustra diferențele mari între energiile fotonilor ce corespund la diferite radiații electromagnetice, în tabelul 11.1 sînt date unele valori reprezentative, exprimate atît în electronvolți/foton, cît și în kilocalorii/„mol" de fotoni. Deși în mod evident nu există un „mol de fotoni", deoarece unitatea practică de energie pentru reacțiile chimice este

*Tabelul 11.1*

**Energiile radiațiilor electromagnetice**

| Tipul de radiație | $\lambda$ reprezentativă (nm) | Energia unui foton (eV/foton) | Energia unui einstein (kcal/„mol de fotoni") |
|---|---|---|---|
| $\gamma$ | 0,01 | $1{,}24 \times 10^{5}$ | $28{,}6 \times 10^{5}$ |
| X | 0,1 | $1{,}24 \times 10^{4}$ | $28{,}6 \times 10^{4}$ |
| UV | 254 | 4,88 | 112,5 |
| Violet | 410 | 3,02 | 69,7 |
| Albastru | 460 | 2,70 | 62,2 |
| Verde | 520 | 2,39 | 55,0 |
| Galben | 580 | 2,14 | 49,3 |
| Roșu | 680 | 1,82 | 42,1 |
| IR | 1 400 | 0,88 | 20,4 |

kcal/mol, pentru a facilita analiza reacțiilor fotochimice numim „mol de fotoni" un număr de fotoni egal cu numărul lui Avogadro :

$$N = 6{,}023 \cdot 10^{23}\ \text{mol}^{-1}.$$

Această cantitate de fotoni se numește *einstein*, energia unui einstein de radiații cu lungimea de undă $\lambda$ fiind $N \cdot h \cdot c/\lambda$.

Valorile din tabelul 11.1 permit înțelegerea distincției în radiații ionizante și neionizante. Energia necesară smulgerii electronilor din atomi (deci ionizării acestora) depășind în marea majoritate a cazurilor 5 eV, este clar că numai radiațiile cosmice, $\gamma$ și X, sînt ionizante.

### 11.1.1. FLUX RADIANT ȘI MĂRIMI FOTOMETRICE

Deoarece ochiul omenesc este sensibil numai la radiațiile din domeniul 400—750 nm, în toate problemele practice legate de iluminare și de folosirea surselor de lumină interesează numai mărimea senzației subiective produsă de radiațiile vizibile. Pe de altă parte, în problemele legate de efectele termice și chimice ale radiațiilor este importantă exprimarea energetică obiectivă.

Dispozitivele radiometrice (termometrele electrice cu termocupluri înnegrite sau cu termistori, actinometrele bazate pe dilatația mercurului sau pe efecte fotochimice) sînt sensibile și la radiații UV și IR, nu numai la cele vizibile, așa încît ele dau fluxul de energie radiantă exprimat ca energie în unitatea de timp pe unitatea de suprafață : $J/s \cdot m^2$ ; $cal/cm^2 \cdot min$ etc.

Alte dispozitive (bazate de obicei pe celule fotoelectrice) sînt construite astfel încît să aibă aproape aceeași sensibilitate spectrală ca și ochiul omenesc, deci să nu răspundă apreciabil la radiațiile UV și IR. Cu acestea, sau pe bază de observații (subiective), se exprimă mărimile legate de lumină în unități fotometrice. Principalele mărimi și unități fotometrice sînt :

*Fluxul luminos* ($\Phi$) reprezintă echivalentul fotometric subiectiv al fluxului energetic, fiind energia luminoasă ce traversează unitatea de suprafață într-o secundă. Unitatea de măsură este *lumenul* (lm).

*Intensitatea luminoasă* (I) a unei surse punctiforme de lumină este raportul dintre fluxul luminos și unghiul $\Omega$ din spațiu în care este distribuit : $I = \Phi/\Omega$ sau, mai precis, $I = d\Phi/d\Omega$. Unitatea de măsură a intensității luminoase în sistemul internațional este *candela* (cd), reprezentînd 1/60 din radiația luminoasă emisă de 1 $cm^2$ din suprafața unui corp negru aflat la temperatura de topire a platinei (2 042 °K). Lumenul este, deci, fluxul luminos într-un unghi spațial de un steradian al unei surse cu intensitatea de 1 cd.

Amintim că un *steradian* (sr) este unghiul din spațiu căruia, pe o sferă cu raza $R$, îi corespunde o suprafață $R^2$. Deoarece suprafața sferei este $4\pi R^2$, unghiul total din spațiu în jurul unui punct este de $4\pi \approx 12{,}56$ sterad. Steradianul este echivalentul spațial al unghiului plan de un radian (fig. 11.3).

*Iluminarea unei suprafețe* ($E$) este echivalentul fotometric al iradierii și reprezintă raportul dintre fluxul luminos și suprafața pe care este distribuit :

$$E = \frac{\Phi}{S} \text{ sau, mai precis : } E = d\Phi/dS.$$

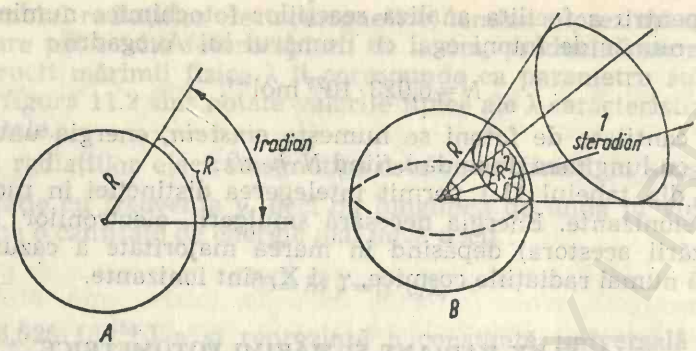



Fig. 11.3. Unghiul plan de 1 radian (*A*) și unghiul spațial (sau solid) de 1 steradian (*B*).

În cazul unei surse punctiforme cu intensitatea $I$ ce iluminează sub un unghi de incidență $i$ o suprafață $dS$ aflată la o distanță $r$ de sursă (fig. 11.4), iluminarea poate fi exprimată în funcție de $I$, observînd că unghiul solid $d\Omega$ sub care se vede $dS$ din sursă este :

$$d\Omega = \frac{dS \cdot \cos i}{r^2},$$

deci :

$$E = \frac{d\Phi}{dS} = \frac{I d\Omega}{dS} = \frac{I \cdot \cos i}{r^2}.$$

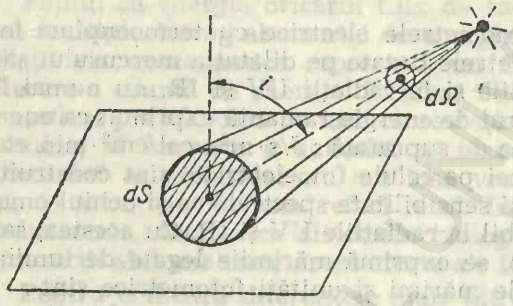



Fig. 11.4. Iluminarea unei suprafețe de către o sursă punctiformă.

Această relație arată că iluminarea scade proporțional cu pătratul distanței față de sursă și cu creșterea înclinării fasciculului luminos față de suprafața iluminată.

Unitatea de măsură a iluminării este *luxul* (lx) reprezentînd iluminarea unei suprafețe de 1 $m^2$ de către un flux incident de 1 lumen : 1 lx = = 1 lm/1 $m^2$.

Cunoașterea și utilizarea iluminării adecvate sînt esențiale pentru desfășurarea diferitelor activități. Astfel, pentru citit iluminarea trebuie să fie între 50 și 100 lx.

### 11.1.2. RADIAȚIA SOLARĂ ȘI ABSORBȚIA ATMOSFERICĂ

Așa după cum s-a arătat la discutarea fluxurilor de energie în biosferă, practic toată lumea vie este dependentă de radiația electromagnetică solară (v. *2.3.1*). Aștrii, așa cum este și Soarele, emit radiații ca urmare a reacțiilor de fuziune (termonucleare) care au loc în interiorul lor și prin care se degajă o cantitate uriașă de energie. În interiorul aștrilor mai reci (de tipul Soarelui) se formează atomi de heliu ($^4_2He$) prin fuziunea atomilor de hidrogen ($^1_1H$). În fiecare secundă se formează în Soare $\approx 6 \cdot 10^7$ t He, degajîndu-se în spațiu o energie de $\approx 3{,}8 \cdot 10^{25}$ J.

Din această energie ajunge la suprafața externă a atmosferei terestre numai o fracțiune extrem de mică, proporțională cu unghiul sub care „se vede" Pămîntul de pe Soare și invers proporțională cu pătratul distanței dintre aceste corpuri cerești. Valoarea *constantei solare*, adică a fluxului de energie radiantă incident pe atmosferă este de $\approx 1{,}4 \cdot 10^3\ J \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$.

Această energie radiantă este distribuită pe diferite lungimi de undă între aproximativ 200 și 2 000 nm, deci din ultravioletul îndepărtat pînă în infraroșul îndepărtat (fig. 11.5). Toate radiațiile UV cu lungimea de undă sub 300 nm, deci ai căror fotoni sînt cu energia cea mai mare, sînt absorbite de către ozonul ($O_3$) prezent în stratosferă la o înălțime în jur de 30 km de la suprafața Pămîntului. Ozonul absoarbe și unele radiații vizibile, în jurul lungimii de undă de 600 nm. O parte din radiațiile IR solare sînt absorbite de vaporii de apă și de $CO_2$ atmosferic, așa încît la suprafața terestră ajung în special radiațiile din domeniul vizibil și IR. Numai 2% din fotonii care traversează atmosfera sînt în UV, 45% în vizibil și 53% în IR.

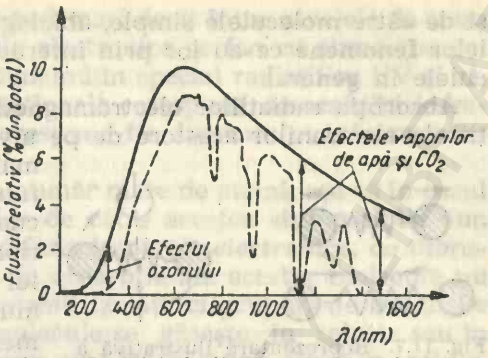



Fig. 11.5. Distribuția spectrală relativă a energiei radiante solare la limita externă a atmosferei (*linia plină*) și la suprafața Pămîntului (*linia punctată*).

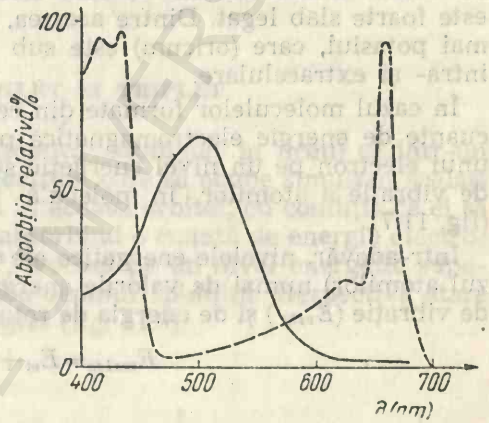



Fig. 11.6. Spectrele de absorbție ale fotopigmenților vizuali și clorofilieni : ——— retinalul ; — — — clorofila *a*.

Comparînd domeniul de lungimi de undă al radiațiilor ce traversează atmosfera cu acela în care absorb atît pigmenții clorofilieni cît și cei vizuali (fig. 11.6), se poate aprecia existența unei „constrîngeri evolutive" care a dus la selecția acelor sisteme fotochimice capabile să utilizeze radiațiile cu lungimi de undă cuprinse aproximativ între 400 și 900 nm.

## 11.2. EFECTELE RADIAȚIILOR ELECTROMAGNETICE NEIONIZANTE ASUPRA MOLECULELOR

Studiul radiațiilor electromagnetice este justificat, în contextul biofizicii, de importanța fenomenelor produse atunci cînd aceste radiații sînt absorbite de biomolecule „specializate" în captarea și utilizarea energiei fotonilor. Datorită faptului că procesele primare ce au loc în aceste cazuri sînt în general aceleași cu procesele care se produc la absorbția fotonilor

și de către moleculele simple, abiologice, se impune cunoașterea principalelor fenomene ce au loc prin interacțiunea radiațiilor cu atomii și moleculele în general.

Absorbția radiațiilor electromagnetice de către atomi determină tranziții ale electronilor acestora de pe nivelele energetice de bază pe nivele mai ridicate, trecînd astfel din *starea fundamentală* în *stări excitate*. Dacă cuanta de energie absorbită este superioară energiei de legătură a electronului în atom, electronul va fi smuls, atomul devenind ion pozitiv. După cum s-a menționat însă, valorile cuantelor de energie ale radiațiilor UV, vizibile și IR sînt mai mici decît energiile necesare ionizării majorității atomilor. Excepție fac unele metale alcaline la care electronul cel mai îndepărtat de nucleu este foarte slab legat. Dintre acestea, în sistemele biologice se găsește numai potasiul, care (oricum) este sub formă de ion $K^+$ în mediile apoase intra- și extracelulare.

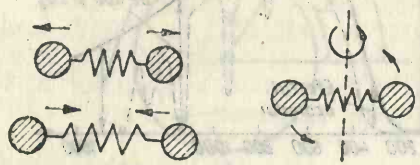


Fig. 11.7. Reprezentare ilustrativă a vibrației atomilor într-o moleculă biatomică și a rotației acesteia.

În cazul moleculelor formate din cel puțin doi atomi, absorbția unei cuante de energie electromagnetică poate determina nu numai ridicarea unui electron pe un nivel energetic superior, ci și o modificare a energiei de vibrație a atomilor în moleculă și a energiei de rotație a moleculei (fig. 11.7).

Într-adevăr, nivelele energetice ale unei molecule nu sînt date (ca în cazul atomilor) numai de valorile energiei electronilor ($E_{el}$), ci și de energia de vibrație ($E_{vibr}$) și de energia de rotație ($E_{rot}$):

$$E_{molec} = E_{el} + E_{vibr} + E_{rot}.$$

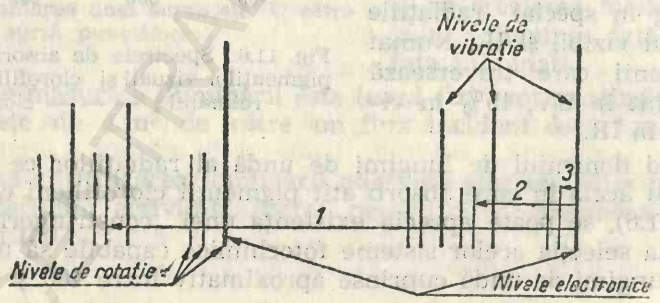



Fig. 11.8. Diagramă a nivelelor energetice ale unei molecule poliatomice și a tipurilor de tranziții posibile între acestea. Prin tranziția 1 variază și $E_{el}$ și $E_{vibr}$ și $E_{rot}$, în timp ce prin tranziția 2 variază numai $E_{vibr}$ și $E_{rot}$, iar prin tranziția 3 numai $E_{rot}$.

Valorile $E_{vibr}$ și $E_{rot}$ sînt tot cuantificate, ca și $E_{el}$, iar între aceste nivele sînt posibile mult mai multe tranziții decît numai între nivelele electronice. În figura 11.8 este redată o diagramă a nivelelor energetice electronice, de vibrație și de rotație ale unei molecule. Deși diagrama nu reprezintă cazul vreunei molecule anumite, trebuie reținut faptul că dife-

rențele între nivelele electronice sînt mai mari decît între nivelele de rotație. De aceea, tranzițiile între nivelele electronice se fac cu absorbția sau emisia unor cuante de energie corespunzînd în special radiațiilor UV și vizibile, în timp ce tranzițiile vibro-rotaționale corespund domeniului infraroșu, iar tranzițiile de rotație pură corespund fie domeniului infraroșu îndepărtat, fie chiar microundelor.

Biomoleculele conțin, de regulă, un număr mare de atomi, așa că în cazul absorbției de radiații electromagnetice de către acestea sînt posibile un număr foarte mare de tranziții între diferitele *nivele electronice*, de *vibrație* și de *rotație*. De aceea, spectrele de absorbție ale acestor molecule nu conțin linii spectrale distincte ca la atomii izolați, ci grupuri de benzi. Pe de altă parte, atunci cînd un tip de molecule se găsește în soluție sau în contact strîns cu alte molecule, așa cum este întotdeauna cazul în celule, rotația moleculelor și chiar vibrațiile atomilor sînt modificate de prezența celorlalte molecule, efectul fiind o suprapunere a nivelelor energetice în așa măsură, încît în loc de linii și benzi de absorbție spectrul de absorbție devine continuu.

### 11.2.1. STĂRI SINGLET ȘI TRIPLET

Se știe (din elementele de fizică atomică studiate în liceu) că într-un atom (sau moleculă) pot exista doi electroni care să ocupe simultan același nivel energetic — deci să se găsească în același orbital, cu condiția ca ei să aibă „*spin*“ [1]-uri opuse. Atunci cînd, absorbind o cuantă de energie electromagnetică, un electron este „excitat“, trecînd pe un nivel energetic superior, el în mod normal nu își schimbă semnul spinului. Respectiva stare excitată este numită, în acest caz, *singlet* (fig. 11.9).

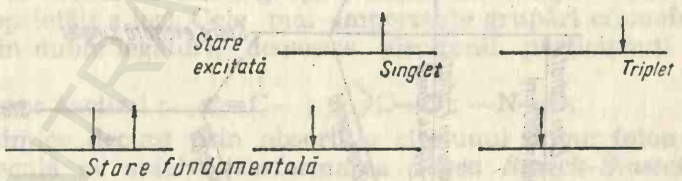



Fig. 11.9. Excitarea unui electron din starea fundamentală într-o stare excitată singlet sau în una triplet. Sensul săgeților sugerează semne opuse sau identice ale spinului celor doi electroni.

Deși cu o probabilitate mult mai mică, este totuși posibil ca, odată cu „excitarea“ (trecerea pe un nivel energetic superior), electronul să-și inverseze și spinul, respectiva stare fiind denumită *triplet*.

Principala deosebire între stările „singlet“ și „triplet“ este din punct de vedere al timpului cît electronul rămîne în fiecare din aceste stări excitate, adică „*timpul lor de viață*“ [2]. Timpul de viață al stărilor excitate este în

[1] Reamintim faptul că prin *spin* se înțelege momentul cinetic propriu al electronului datorită rotației nu în jurul nucleului, ci al unei axe proprii. Spinul electronic poate avea numai două valori, egale în modul dar opuse ca semn.

[2] *Timpul de viață* al unei stări excitate se definește drept timpul în care numărul de molecule din acea stare scade la 1/e, adică la ≈37% din numărul inițial.

general foarte mic, datorită tendinței electronului de a reveni în starea fundamentală, pierzînd într-o formă oarecare surplusul de energie primit de la radiația electromagnetică. Însă, în cazul stărilor triplet, revenirea în starea fundamentală înseamnă iarăși o inversare de spin, așa încît probabilitatea acestei tranziții este mult mai mică. În consecință, timpul de viață al stărilor triplet este mult mai mare (între $10^{-5}$ s și cîteva secunde), față de al stărilor singlet ($10^{-9}$—$10^{-8}$ s). În acest interval de timp mai lung, este mult mai mult posibil ca molecula excitată să transmită surplusul de energie altei molecule (de exemplu, prin ciocniri), în loc să o reemită sub formă de radiație electromagnetică. Datorită acestei posibilități crescute de transfer al energiei electromagnetice de la o moleculă absorbantă la altele, stările triplet prezintă importanță pentru înțelegerea mecanismului molecular al fotosintezei.

### 11.2.2. DEZEXCITAREA MOLECULELOR: FLUORESCENȚĂ, FOSFORESCENȚĂ ȘI TRANZIȚII NERADIATIVE

Există diferite modalități prin care energia primită de o moleculă de la cîmpul electromagnetic (ce ridică un electron al acelei molecule pe un nivel energetic superior) să fie redegajată. Pentru a ilustra în mod concret aceste posibilități, ne vom referi la exemplul clorofilei (fig. 11.10).

Atunci cînd molecula revine pe nivelul energetic de bază prin emisia unei cuante de radiație electromagnetică, fenomenul se numește *luminiscență*. Aceasta poate fi de două tipuri : *a) fluorescență,* atunci cînd mole-

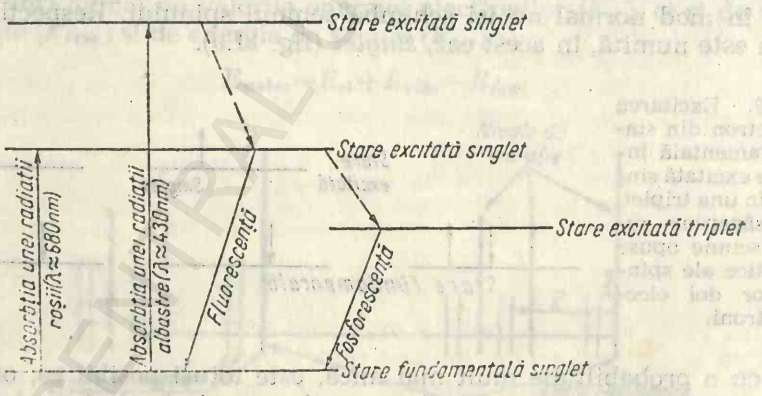



Fig. 11.10. Diagramă a diferitelor tranziții prin care o moleculă (de exemplu, de clorofilă) poate emite energia unui foton absorbit ; liniile întrerupte reprezintă tranziții neradiative.

cula revine în starea singlet fundamentală dintr-o stare excitată tot singlet ; *b) fosforescență,* atunci cînd molecula revine în starea singlet fundamentală dintr-o stare excitată triplet.

Deoarece, așa cum am menționat mai sus, stările triplet au un timp de viață relativ lung, fosforescența durează mult mai mult decît fluorescența : $10^{-3}$—10 secunde, față de $10^{-9}$—$10^{-6}$ secunde. O altă variantă prin care o moleculă excitată poate emite radiație este așa-numita *„fluorescență întîr-*

*ziată*" : o moleculă din starea triplet (cu viață lungă) primește, prin ciocniri, suficientă energie pentru a fi ridicată pe nivelul excitat singlet, de unde va trece rapid în starea singlet fundamentală.

Adesea dezexcitarea moleculelor se realizează fără vreo emisie de radiație electromagnetică, prin *tranziții neradiative*. În acest caz, energia fotonului absorbit este fie convertită complet în căldură (energie de agitație termică) prin ciocniri, fie transferată parțial altei molecule capabilă să treacă, la rîndul ei, într-o stare excitată. Un astfel de transfer al energiei de excitație electronică de la o moleculă la alta explică migrarea și distribuirea energiei între moleculele implicate în procesul fotosintezei.

### 11.2.3. TRANSFORMĂRI MOLECULARE PRODUSE DE ABSORBȚIA RADIAȚIILOR ELECTROMAGNETICE NEIONIZANTE

Modificînd distribuirea electronilor în cadrul moleculei absorbante, radiația electromagnetică poate produce schimbări ale legăturilor interatomice din moleculă, adică transformări fotochimice. Exemple foarte importante din sistemele biologice sînt procesele de *fotoizomerizare:* izomerizarea *cis-trans*, așa cum se întîmplă în rodopsină (pigmentul vizual fotoabsorbant din celulele retiniene cu bastonașe) ; deplasarea unei duble legături ; ruperi și formări de cicluri. În ceea ce privește radiațiile ultraviolete, deoarece au energie mai mare decît a multor legături chimice covalente (în jurul a 100 kcal/mol), pot produce ruperi ale acestor legături.

Indiferent însă de natura concretă a procesului fotochimic, el nu se produce decît după ce radiația electromagnetică a fost efectiv absorbită în moleculele capabile să sufere respectiva transformare. Această afirmație constituie *legea Gotthus-Draper* a transformărilor fotochimice. În cazul moleculelor organice mari, radiațiile electromagnetice nu sînt absorbite de întreaga moleculă, ci numai de unele grupări numite *cromofori* (tocmai datorită acestei proprietăți a lor). Cele mai importante grupări cromofore sînt cele care conțin duble legături, deoarece electronii participanți la acestea pot fi mai ușor excitați : $-\overset{|}{C}=\overset{|}{C}-$ ; $>C=O$ ; $-N=O$.

Procesele fotochimice decurg prin absorbția cîte unui singur foton de către fiecare moleculă ce suferă trasformarea *(legea Starck-Einstein).* Această lege exprimă, în fond, cuantificarea energiei electromagnetice și a nivelelor energetice ale moleculelor. Ea arată că o cuantă de energie electromagnetică (deci un foton) nu se poate împărți între mai multe molecule și că o moleculă nu poate adiționa energiile a doi sau mai mulți fotoni, avînd fiecare o energie mai mică decît valoarea necesară pentru reacția fotochimică. De exemplu, dacă o moleculă poate suferi o transformare fotochimică prin absorbția unui foton al radiației cu $\lambda = 700$ nm, un foton cu $\lambda = 350$ nm, care are o energie dublă, nu va produce transformarea a două molecule. Pe de altă parte, dacă pentru o reacție este necesară o cuantă cu $\lambda = 350$ nm, absorbția chiar a mai multor cuante cu lungime de undă mai mare — deci cu energie mai mică — nu va avea nici un efect.

Legea Starck-Einstein sugerează că *randamentul cuantic* al proceselor fotochimice, definit ca raportul între numărul de molecule ce reacționează și numărul de fotoni absorbiți, ar trebui să fie de 100%. În realitate, se

constată valori mult mai mici, deoarece absorbția fotonilor constituie numai etapa primară, urmată de o succesiune de alte etape secundare ce duc la transformarea fotochimică propriu-zisă.

Datorită energiei mai mari a radiațiilor UV față de cele vizibile și a faptului că acizii nucleici absorb puternic în domeniul 240—290 nm (prin intermediul numeroaselor legături duble conjugate din bazele purinice și pirimidinice, avînd rol de grupări cromofore), radiațiile UV pot produce modificări chimice importante în ADN și ARN, în special prin formarea de dimeri sau chiar trimeri ai bazelor pirimidinice, și prin hidroxilarea acestora. De asemenea, se produc ruperi ale lanțului de ADN sau despiralizări ale celor două catene care formează dubla elice (datorită ruperii punților de hidrogen). Este ușor de înțeles astfel faptul că radiațiile UV sînt capabile să inducă mutații genetice. Și proteinele absorb radiațiile UV din domeniul menționat, deoarece au ca grupări cromofore dublele legături conjugate din aminoacizii tirozină și triptofan. Prin absorbția acestor radiații, se schimbă în principal structura terțiară a moleculelor și, odată cu aceasta, este afectată funcția lor biologică (de exemplu, activitatea enzimatică), în majoritatea cazurilor schimbarea structurii terțiare însemnînd o denaturare. Aceste efecte, atît la nivelul acizilor nucleici, cît și a proteinelor, explică proprietățile bactericide ale radiațiilor UV.

## 11.3. INFLUENȚA RADIAȚIILOR ELECTROMAGNETICE NEIONIZANTE ASUPRA ORGANISMELOR

Lumina are o multitudine de efecte atît asupra organismelor vegetale, cît și a celor animale. Principalul proces care se desfășoară în plante sub influența luminii este fotosinteza. Tot lumina determină însă creșterea și chiar forma diferitelor organe ale plantelor (fotomorfoze) și induce mișcări atît la plantele inferioare (de obicei unicelulare), care se deplasează liber, cît și la plantele superioare, fixe, la care se pot deplasa numai părți sau organe ale lor. În regnul animal lumina constituie principalul factor de orientare în spațiu a majorității speciilor (începînd chiar cu celenteratele și moluștele, la care se constată o sensibilitate dermatoptică), iar pentru vertebratele superioare este suportul material al celei mai mari cantități de informație senzorială.

În contextul proceselor biofizice vom observa faptul că radiațiile luminoase constituie fie sursa de energie liberă pe care un organit fotoreceptor o convertește în energie chimică (așa cum se întîmplă în cloroplaști), fie semnalul care declanșează un răspuns senzorial (ca în fotoreceptorii vizuali). În primul caz se desfășoară un proces de *fotoconversie*, iar în cel de al doilea — *fotodetecție*. Relativ recent s-a descoperit și posibilitatea ca în aceeași celulă să se desfășoare ambele tipuri de procese, așa cum se întîmplă în bacteriile halofile *Halobacterium halobium*. Trebuie remarcat faptul că toate aceste procese de captare a cuantelor de lumină se desfășoară în formațiuni subcelulare cu o arhitectonică moleculară bine precizată : membrane, constînd din straturi duble lipidice, în care sînt incluse atît molecule de pigmenți fotoabsorbante, cît și molecule cu rol enzimatic și de transport de ioni.

Am menționat deja acțiunea bactericidă a radiațiilor UV datorată capacității lor de a rupe legături chimice. Asupra organismelor superioare aceste radiații au efecte de mai mică amploare, deoarece sînt absorbite la nivelul pielii, dar evidente. Astfel, ele produc inflamații ale corneei și în general leziuni ale ochilor. În piele apare o pigmentație crescută datorită transformării tirozinei în melanină. Acest pigment absoarbe aproape integral radiațiile UV, protejînd astfel organismul. La doze mari de radiații UV la nivelul pielii apare eritemul, datorită lezării membranelor lizozomale din celulele dermice. Un efect fotochimic benefic al acestor radiații (tot la nivelul pielii) este transformarea ergosterolului în vitamina $D_2$ (implicată în metabolismul calciului).

Radiațiile infraroșii, ai căror fotoni au energie mică, produc în principal o ridicare locală a temperaturii (datorită creșterii energiei de agitație termică a moleculelor). Efectele lor biologice decurg din încălzirea pielii și a țesutului subcutanat. Creșterea temperaturii determină intensificarea locală a metabolismului și vasodilatație. Aceste modificări locale metabolice și circulatorii pot duce la ameliorarea afecțiunilor inflamatorii și a tulburărilor de circulație periferică.

**BIBLIOGRAFIE**


Giese, A. C. *Cell Physiology*, Ch. 9. W. B. Saunders, Philadelphia, 1973.

Noble, P. S. *Introduction to Biophysical Plant Physiology*, Ch. 4. Freeman & Co., San Francisco, 1974.

Stanford, A. L., Jr. *Foundations of Biophysics*, Ch. VII. Academic Press, New York, 1975.

Turcu, Gr., Iliescu, R. Capitolul 15.3. din *Biofizica medicală* (sub redacția Prof. dr. doc. V. Vasilescu). Editura didactică și pedagogică. București, 1977.

# 12

# EFECTELE RADIAȚIILOR IONIZANTE ASUPRA SISTEMELOR BIOLOGICE

O clasificare a radiațiilor, mai semnificativă pentru biologie decît distincția între cele electromagnetice și corpusculare, este legată de efectele acestora asupra materiei. Astfel se deosebesc radiațiile ionizante, a căror energie este suficientă pentru a smulge un electron dintr-o structură moleculară de radiațiile neionizante, care nu pot realiza acest efect.

Energia de ionizare a principalilor atomi de interes biologic este următoarea : H : 13,54 eV ; C : 11,24 eV ; O : 13,57 eV. Radiațiile electromagnetice ale căror cuante de energie sînt mai mici decît 5 eV sînt neionizante (UV, vizibile și infraroșii) (v. *Capit. 11*), în timp ce radiațiile X și $\gamma$, cît și radiațiile corpusculare, mult mai energice, constituie grupa radiațiilor ionizante.

Absorbția radiațiilor ionizante de către materia vie duce la efecte complexe, în cadrul cărora se pot distinge mai multe faze : *a) reacțiile elementare*, de durată foarte scurtă ($10^{-15}$ sec), constînd din ionizarea și excitarea atomilor sau moleculelor, urmate de *reacții radiochimice*, de formare a radicalilor liberi. Această primă fază este foarte puțin influențată de variațiile de temperatură ; *b) reacțiile chimice*, în care radicalii liberi și moleculele excitate reacționează fie între ei, fie cu alte molecule. Viteza acestor reacții crește cu temperatura (faza termosensibilă) și ele durează de la o fracțiune de secundă pînă la cîteva ore ; *c)* în cazul materiei vii, urmează faza *modificărilor funcției și structurilor celulare*, care poate duce la leziuni observabile. Acest stadiu biologic poate dura pînă la mai mulți ani.

## 12.1. INTERACȚIUNEA PRIMARĂ A RADIAȚIILOR IONIZANTE CU MATERIA

Ionizarea unui atom este provocată de interacțiunea unei particule încărcată electric cu un electron din atomul respectiv. În cazul fasciculelor de particule încărcate electric (radiațiile $\beta$, protonii, radiațiile $\alpha$), radiația

este direct ionizantă ; în cazul fasciculelor de neutroni sau a fotonilor $\gamma$ radiația este ionizantă în mod indirect, punînd în mișcare particulele încărcate (electroni, protoni) ce vor produce ionizarea.

Ionizările stau la baza efectelor care apar într-un mediu străbătut de radiații. Aceste efecte sînt utilizate în sistemele de detectare a radiațiilor (detectoare, dozimetre) sau în vizualizarea lor (ecrane luminiscente, filme radiologice). Tot ionizările sînt și cauza primară a efectelor biologice.

### 12.1.1. INTERACȚIUNEA PARTICULELOR ÎNCĂRCATE ELECTRIC CU MATERIA

Particulele încărcate electric sînt frînate atunci cînd traversează o substanță, prin interacțiunea coulombiană cu electronii periferici ai atomilor constituenți. La fiecare ciocnire cu un electron, o parte din energia cinetică a particulei se pierde în ionizarea sau excitarea atomului respectiv.

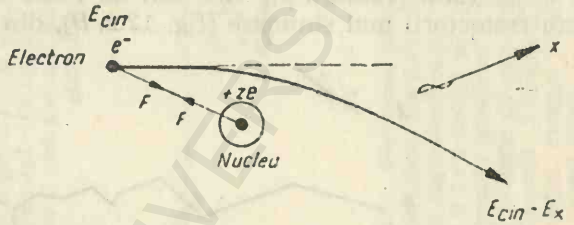


Fig. 12.1. Interacțiunea între un electron incident și un nucleu atomic (frînare).

Particulele $\beta$ (electronii) care trec prin vecinătatea unui nucleu sînt atrase și suferă o bruscă variație de viteză (accelerație centripetă) însoțită de emisia unei radiații electromagnetice X numită *„radiație de frînare"* („Bremsstrahlung", în limba germană) (fig. 12.1).

Încetinirea mișcării electronilor în mediile și la energiile care ne interesează în biologie se produce mai ales prin mecanismul ciocnirii. Interesul practic al „frînării" constă în producerea de radiații X în medii cu număr atomic Z mare (cazul ecranării surselor $\beta$ cu plumb).

*Transferul liniar de energie* (*TLE*) exprimă energia pierdută de fasciculul de particule pe unitatea de lungime a traiectoriei sale : $\frac{\Delta E}{\Delta x}$ (keV/$\mu$m) și caracterizează capacitatea mediului străbătut de a frîna radiațiile. *TLE* crește cînd sarcina particulei este mai mare și cînd mediul străbătut are un număr atomic mare.

*TLE* este în mod evident proporțional cu numărul de ionizări produse pe unitate de lungime ($N$) și cu energia transferată la fiecare ionizare ($e_i$) :

$$TLE = N \cdot e_i.$$

De exemplu, în aer, valoarea $e_i$ este, în medie, de 34 eV, iar în apă de 32 eV.

Traiectoriile particulelor grele ($\alpha$, protoni) sînt rectilinii, întrucît masa lor mare le conferă o inerție suficient de mare pentru a nu fi deviate în momentul ciocnirii cu un electron. Aceste particule prezintă *TLE* mare (tab. 12.1), avînd deci o putere de ionizare mare și sînt încetinite repede. Astfel *„parcursul"* (distanța străbătută în mediu pînă cînd particula ajunge în repaus) unei particule $\alpha$ este destul de scurt (cîțiva cm în aer) (fig. 12.2, *A*).

*Tabelul 12.1*

**Valori ale T.L.E. în apă**

| Particula | Energia particulei în MeV | *T.L.E.* în keV/m |
|---|---|---|
| Particula α | 5 | 95 |
| | la capătul parcursului | 260 |
| Electroni | 1 | 0,25 |
| | 0,1 | 0,42 |
| | 0,01 | 2,3 |
| | 0,001 | 12,3 |

Electronii (radiații β), care sînt de 7 200 ori mai ușori decît particula α, au traiectorii mai sinuoase (fig. 12.2, *B*), din cauza marilor devieri pe care

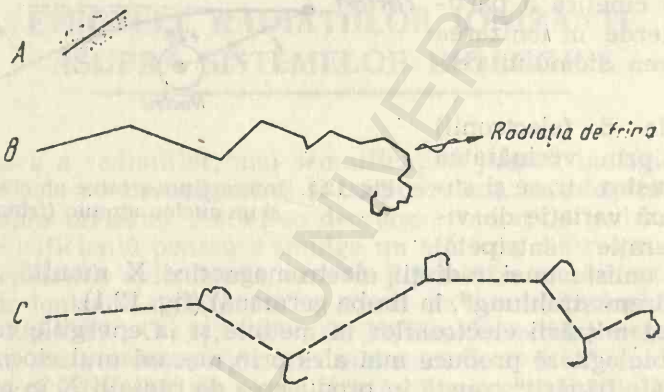



Fig. 12.2. Interacțiunea primară a particulelor cu materia : *A* — particule α ; *B* — electroni ; *C* — fotoni.

aceștia le suferă. Parcursul lor este mult mai lung din cauza unui *TLE* mult mai mic (v. tab. 12.1) (de ordinul metrilor, în aer și 1—2 cm, în țesuturi).

### 12.1.2. INTERACȚIUNEA FOTONILOR γ CU MATERIA

Cînd un fascicul de radiații γ pătrunde într-un mediu, se constată o dispariție progresivă a fotonilor care-l constituie. Această micșorare a numărului de fotoni incidenți poartă numele de *atenuare* și poate fi descrisă cantitativ printr-o curbă exponențială :

$$I = I_0 e^{-\mu x},$$

unde : $I_0$ este intensitatea fasciculului inițial ; $I$ = intensitatea fasciculului după străbaterea unui strat de substanță de grosime $x$, iar $\mu$ = coeficientul de atenuare caracteristic substanței traversate, care depinde de densitatea și numărul atomic al substanței respective. Această relație este de aceeași

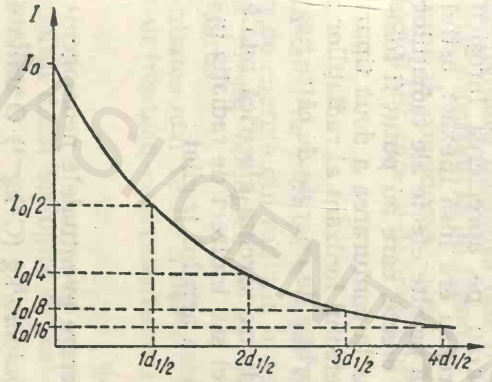



Fig. 12.3. Curba de atenuare a radiațiilor $\gamma$.

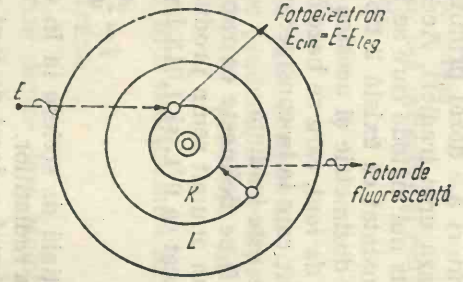



Fig. 12.5. Efectul fotoelectric. Un foton incident cedează întreaga sa energie ($E$) unui electron dintr-un atom, pe care-l scoate de pe orbita lui și îi imprimă o mișcare prin energia cinetică transferată $E_{ctn}=E-E_{leg}$ ($E_{leg}$ = energia de legătură a electronului smuls din atom).

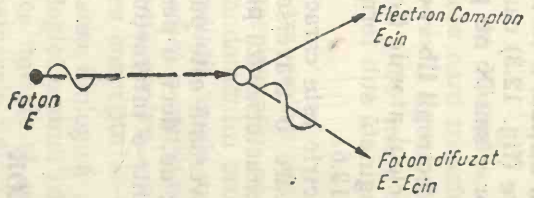



Fig. 12.4. Efectul Compton. Un foton cu energie ($E$), ciocnind un electron liber, îi cedează o energie cinetică ($E_{ctn}$), punîndu-l în mișcare. Fotonul este deviat în urma ciocnirii și rămîne cu o energie mai mică ($E-E_{ctn}$), deci cu lungime de undă mai mare.

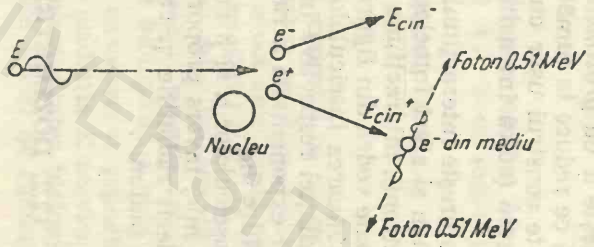



Fig. 12.6. Formarea perechilor de electroni. În cîmpul electric intens din jurul nucleului, un foton ce are energia ($E$) superioară valorii de $2\times0{,}51$ MeV (ce corespunde masei a 2 electroni) se poate transforma în 2 electroni: unul pozitiv (pozitron) și unul negativ. Excesul de energie se împarte ca energie cinetică celor două particule nou formate. Pozitronul se anihilează cu un electron din mediu, energia rezultată fiind eliberată sub forma a doi fotoni cu energie de 0,51 MeV fiecare.

BCU FIZICĂ CENTRAL UNIVERSITARĂ

formă cu legea Beer-Lambert pentru extincție în cazul radiațiilor electromagnetice din spectrul vizibil (v. *Capit. 11*).

Dacă se înlocuiește $x$ cu *grosimea de înjumătățire* $d_{1/2}$ (grosimea stratului de substanță ce reduce la jumătate intensitatea inițială a fasciculului de fotoni), se poate construi ușor curba de atenuare (fig. 12.3) care tinde asimptotic către zero (adică intensitatea fasciculelor $\gamma$ sau X nu poate fi redusă complet).

Atenuarea se datorește interacțiunii fotonilor cu electronii liberi din materie (efect Compton și efect fotoelectric) sau cu nucleul atomic (formarea perechilor de electroni), interacțiune ce poate fi imaginată sub forma unui șoc, așa cum se poate vedea din figurile 12.4, 12.5 și 12.6.

În concluzie, atenuarea fasciculelor încărcate electric este caracterizată prin parcursul radiației respective în materia pe care o traversează, în timp ce atenuarea exponențială a radiațiilor $\gamma$ se caracterizează prin grosimea de înjumătățire $d_{1/2}$.

Interacțiunea fasciculelor $\alpha$ și $\beta$ cu substanța traversată este puternică, avînd un parcurs mic, invers proporțional cu *TLE*; au, deci, o penetrabilitate mai mică decît radiațiile $\gamma$, caracterizate printr-o interacțiune mai slabă și *TLE* mult mai mic.

## 12.2. DOZIMETRIA RADIAȚIILOR

Măsurarea efectelor biologice produse de radiațiile ionizante a devenit necesară cînd acestea au început să fie utilizate în medicină în scopuri diagnostice și terapeutice. În contextul aplicațiilor medicale, s-a extins noțiunea de *doză* și în domeniul radiațiilor. Astfel se vorbește despre *doza de radiații primită*, iar procedeele utilizate pentru măsurarea acestei doze sînt reunite sub numele de *dozimetrie*.

Primele măsurători ale dozei primite se bazau pe aprecierea înroșirii pielii, care urmează unei iradieri. Acest procedeu era însă inexact, astfel încît s-au introdus noi metode care se bazează pe alte efecte ale radiațiilor ionizante. S-a constatat că există 2 tipuri de efecte, care au putut fi folosite cu succes în dozimetrie și acestea au dus la conturarea a două tipuri de doze : *1*) *doza de ioni*, care se bazează pe efectul ionizant al radiațiilor ; *2*) *doza de energie*, care ia în considerare absorbția de energie de către materie, cînd aceasta este iradiată.

*Doza de ioni* ($I$) se definește ca raportul dintre sarcina electrică totală ($Q$) a ionilor de un anumit semn produși direct sau indirect de radiația incidentă în aer uscat la 0 °C și 1,013 bar și masa aerului iradiat :

$$I = \frac{dQ}{dm}.$$

Forma diferențială de scriere ia în considerare eventualele neomogenități de absorbție a radiațiilor.

Unitatea de măsură a dozei de ioni este *coulomb*/kg ($C \cdot kg^{-1}$)·O unitate mai veche, încă în uz, a dozei de ioni este *röntgenul* (R). Corespondența cu unitatea din S.I. este :

$$1\ R = 258 \cdot 10^{-6}\ C \cdot kg^{-1}.$$

*Doza de energie absorbită* ($D$) se definește ca raportul între energia ($E$) transferată de către radiații unei substanțe și masa substanței iradiate.

$$D = \frac{dQ}{dm}.$$

Unitatea de măsură a dozei de energie este numită *Gray* (Gy) și este egală cu doza care transferă energia de 1 J unei mase de materie de 1 kg : 1 Gy=1 J/1 kg=J·kg$^{-1}$.

O unitate încă mult folosită în practică, a dozei de energie, este *rad*-ul (rd).

$$1 \text{ Gy} = 100 \text{ rd}.$$

În cazul traversării unui mediu viu se constată că orice tip de radiație ionizantă corpusculară sau electromagnetică produce același tip de efect biologic. Randamentul producerii acestui efect diferă însă pentru diferitele tipuri de radiații, unele radiații ($\alpha$, de exemplu) fiind mai eficace decît altele ($\beta$, $\gamma$), adică o cantitate de energie mai mică transferată de particula $\alpha$ este suficientă pentru a produce același efect. Această constatare a dus la introducerea conceptului de *„efectivitate biologică"* a unei radiații.

Efectivitatea biologică a unei radiații oarecare se raportează la efectivitatea biologică a unei radiații standard (radiația X accelerată la 200 kV), care se ia ca unitate și astfel se obține efectivitatea biologică relativă ($\eta$) ce are următoarele valori pentru diferitele tipuri de radiații :

| | |
|---|---|
| X, $\gamma$, $e^-$ | $\eta = 1$ |
| neutroni | $\eta = 5—10$ |
| protoni | $\eta = 10$ |
| $\alpha$ | $\eta = 20$ |

Efectivitatea biologică este o noțiune experimentală care are semnificație doar raportată la un fenomen biologic precis.

Luînd în considerare acest parametru, s-a introdus și noțiunea de *doză biologică* ($B$), care se definește prin relația :

$$B = \eta D.$$

Unitatea de măsură a dozei biologice este *Sievert-ul* (Sv), care este doza de energie din radiația incidentă ce produce, în condiții identice, aceleași efecte biologice ca și doza de 1 Gy provenită de la radiația X standard.

Unitatea mai veche a dozei biologice, încă des întîlnită în practică, este *rem*-ul (röntgen-equivalent-man) :

$$1 \text{ Sv} = 100 \text{ rem}.$$

Debitul dozei biologice ($b$) este raportul dintre doza biologică și timpul de iradiere :

$$b = \frac{B}{t},$$

și se măsoară în remi/sec, sau remi/oră.

Una din cele mai dezbătute probleme ale radioprotecției este stabilirea valorii *dozei maxime admise*, ca fiind doza totală de radiații ionizante primită de un individ și care, în stadiul actual al cunoștințelor noastre, nu-i poate provoca tulburări decelabile. Nu se iau însă în considerare și posibilele efecte genetice.

Normele de radioprotecție dau valorile iradierii admise în diferite condiții (tab. 12.2).

*Tabelul 12.2*

**Doza maximă admisă (rem/an)**

| Zona iradiată | Personalul expus profesional | Restul populației |
|---|---|---|
| Întregul corp ; gonadele ; capul și trunchiul ; organele hematopoetice ; cristalin | 5 | 0,5 |
| Mîini, antebrațe ; picioare și glezne | 75 | 7,5 |

## 12.3. REACȚIILE RADIOCHIMICE

Aceste reacții au fost studiate „in vitro" pe diferiți constituenți ai materiei vii, ca apa și diferite macromolecule. Calitativ, toate radiațiile ionizante dau aceleași reacții radiochimice. Cantitativ, însă, randamentul reacțiilor depinde de tipul radiației, adică de *TLE*.

Citoplasma poate fi considerată în mod schematic ca o soluție apoasă. Astfel, radiațiile ionizante au : *1) acțiune directă* asupra moleculelor solvite, producîndu-le leziuni și *2) acțiune indirectă*, datorită reacțiilor ce se petrec între produșii de radioliză a apei și moleculele solvitului (fig. 12.7).

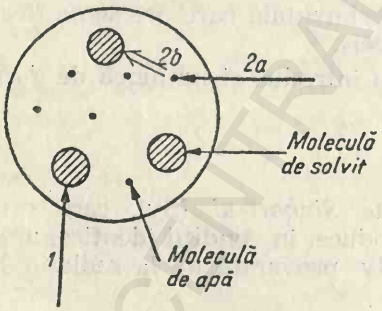



Fig. 12.7. *1* — acțiunea directă a radiației asupra moleculei solvitului ; *2* — acțiunea indirectă ; *2a* — acțiunea asupra apei ; *2b* — acțiunea produșilor de radioliză a apei asupra moleculelor solvite.

### 12.3.1. RADIOCHIMIA APEI ȘI A COMPUȘILOR ORGANICI

Deoarece apa reprezintă componentul major al materiei vii (v. *Capit. 4)*, principalul efect primar al radiațiilor constă în ruperea moleculei de $H_2O$. Reacția globală de radioliză a apei este :

$$H_2O \rightarrow HO^{\cdot} + H^{\cdot},$$

în care : $H^{\cdot}$ și $OH^{\cdot}$ sînt radicali liberi, adică purtători de electroni singulari, deci foarte reactivi. Legarea acestei reacții globale de ionizarea inițială se face astfel : molecula de apă este ionizată : $H_2O \rightarrow H_2O^+ + e^-$. Ionul $H_2O^+$ rămîne pe loc și suferă reacția $H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH^{\cdot}$. Electronul însă este proiectat la distanță și poate parcurge 100—150 Å. Cînd a fost

suficient încetinit (electron termic), el rămîne prins ca într-o capcană în „groapa" de potențial electric formată de dipolii apei (fig. 12.8) ce se orientează cu polul lor pozitiv spre el. Acest electron a fost numit *polaron* sau electronul apei. El poate da reacția : $e^- + H_2O \rightarrow H^\cdot + OH^-$. Însumînd aceste reacții, se ajunge la reacția globală.

Se vede că radicalii $OH^\cdot$ rămîn repartizați în imediata vecinătate a traiectoriei particulei, în timp ce radicalii $H^\cdot$ au o distribuție mai laxă (fig. 12.9).

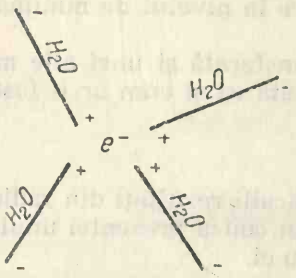



Fig. 12.8. Electronul apei, reținut în groapa de potențial electric formată de moleculele dipolare ale apei orientate cu polul (+) spre electron.

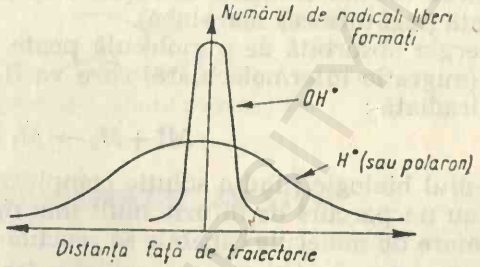



Fig. 12.9. Distribuția radicalilor liberi în jurul traiectoriei particulei ionizante.

Soarta radicalilor liberi apăruți din radioliza apei depinde de mediul ce a fost străbătut și de tipul de radiație folosit. În apa pură, unde nu există alte molecule, singura posibilitate este combinarea radicalilor liberi între ei. Se disting 2 cazuri : *a*) cînd *TLE* al radiației este mare, deci densitatea liniară de ionizare este mare ; radicalii $H^\cdot$ și $OH^\cdot$ sînt apropiați unii de alții și se petrec reacțiile :

$$H^\cdot + OH^\cdot \rightarrow H_2O$$
$$H^\cdot + H^\cdot \rightarrow H_2$$
$$OH^\cdot + OH^\cdot \rightarrow H_2O_2$$

Se poate înțelege acum formarea apei oxigenate, chiar în absența $O_2$, în cazul unei iradieri $\alpha$ ; *b*) cînd densitatea liniară de ionizare este mică, probabilitatea de întîlnire între 2 radicali $OH^\cdot$ (sau 2 radicali $H^\cdot$) este mică. Are loc doar recombinarea $H^\cdot + OH^\cdot \rightarrow H_2O$.

Dacă presupunem că există $O_2$ dizolvat în apă [1], reacția $H^\cdot + O_2 \rightarrow HO_2^\cdot$ devine foarte probabilă. Radicalul $HO_2^\cdot$ este mult mai stabil decît $H^\cdot$ și $OH^\cdot$.

Radicalii $HO_2^\cdot$ se combină între ei : $2\,HO_2^\cdot \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Se vede, deci, că iradierea apei în prezența oxigenului favorizează apariția unor oxidanți foarte puternici : $HO_2^\cdot$ și $H_2O_2$.

[1] Este cazul țesuturilor unde există, în medie, $8 \times 10^{17}$ molecule $O_2/cm^3$, adică o distanță de 10 nm între molecule. Radicalul $H^\cdot$ este la maximum 7 nm distanță de o moleculă $O_2$.

Radiaţiile acţionează direct asupra biomoleculelor, excitîndu-le. Excesul de energie pe care-l posedă o moleculă excitată se eliberează fie prin emisie de fotoni (fluorescenţă), fie prin ruperea unei legături covalente, urmată de scindarea moleculei în doi radicali :

$$R—R' \rightarrow R^{\bullet} + R'^{\bullet}.$$

Nu întotdeauna electronul deplasat prin excitare aparţine legăturii rupte. Energia absorbită prin excitare poate migra în interiorul moleculei (migraţie intramoleculară) şi ruptura se produce la nivelul de minimă rezistenţă (legătura cea mai slabă).

Energia absorbită de o moleculă poate fi transferată şi unei alte molecule (migraţie intermoleculară) care va fi afectată ca şi cum ar fi fost direct iradiată :

$$M_1^{\ddagger} + M_2 \rightarrow M_1 + M_2^{\ddagger}.$$

Mediul biologic fiind o soluţie complexă, radicalii rezultaţi din radioliza apei au un parcurs de difuzie mult mai mic, din cauza prezenţei unui număr mare de molecule capabile să reacţioneze cu ei.

Formarea peroxizilor este o reacţie foarte generală. La fel ca apa care produce peroxid de H ($H_2O_2$), soluţiile organice RH produc peroxizi $RO_2H$. Mecanismul acestei reacţii în prezenţa oxigenului este :

$$RH + OH^{\bullet} \rightarrow R^{\bullet} + H_2O$$

$$\left[\begin{array}{l} \rightarrow R^{\bullet} + O_2 \rightarrow RO_2^{\bullet} \\ RO_2^{\bullet} + R'H \rightarrow RO_2H + R'^{\bullet} \end{array}\right]$$

Plecînd de la o ionizare, se poate pune în evidenţă formarea în lanţ a numeroşi peroxizi ce se păstrează mult timp după iradiere şi provoacă efectele tardive ale radiaţiilor.

În moleculele cu grupări — SH se formează disulfuri :

$$2\,RSH + 2\,HO^{\bullet} \rightarrow R—S—S—R + 2\,H_2O.$$

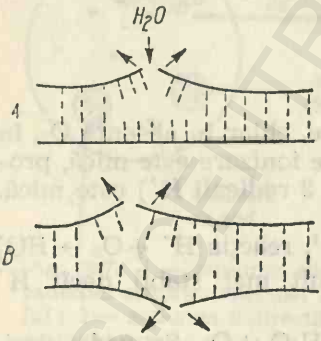



Fig. 12.10. Ruperea lanţurilor de ADN : *A* — rupere simplă, urmată de pătrunderea moleculelor de apă şi desfacerea legăturilor de H între baze ; *B* — rupere dublă, urmată de separarea unei părţi din moleculă.

Aceste reacţii de formare de peroxizi şi disulfuri duc la remanierea legăturilor de H şi au ca rezultat modificări de configuraţie structurală a proteinelor, determinînd inactivarea enzimelor.

În acizii nucleici au loc *ruperi* ale legăturilor fosfodiester şi alterarea bazelor purinice şi pirimidinice. Apar *ruperi simple* (fig. 12.10, *A*), caz in care alterarea afectează cei 3—4 nucleotizi vecini, sau *ruperi duble* (fig. 12.10, *B*) care sînt mai rare (în raportul 1 : 10) faţă de ruperile simple. O rupere simplă creşte flexibilitatea moleculei, în timp ce o rupere dublă poate duce la scindarea unei părţi întregi din moleculă. Polimerii organici pot suferi, pe lîngă ruperi, şi *reticulări* în urma iradierii (fig. 12.11).

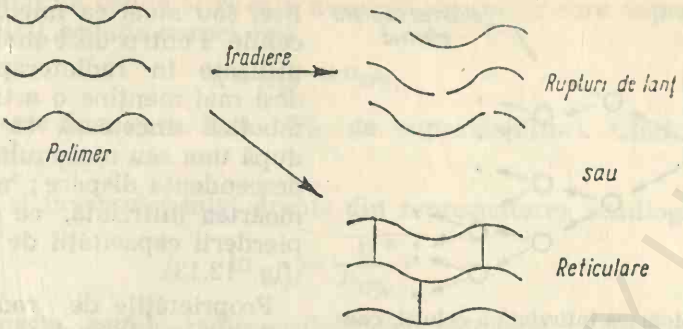



Fig. 12.11. Consecințele iradierii polimerilor.

## 12.4. EFECTUL RADIAȚIILOR „IN VIVO"

Efectele iradierii structurilor biologice variază în funcție de constituenții moleculari ai structurii iradiate, de tipul de celulă, țesut sau organ iradiat, de starea lor fiziologică, de specie și de treapta de dezvoltare filogenetică și ontogenetică.

### 12.4.1. EFECTE ASUPRA FUNCȚIILOR CELULARE

Prin iradierea cu doze crescînde a unei populații celulare menținută în cultură, apar efecte măsurabile în următoarea ordine :

— *modificarea ratei de creștere :* pentru doze mici, masa culturii celulare crește inițial, din cauza apariției unor celule uriașe, după care masa celulelor scade :

— *întîrzierea mitozei* pentru iradiere cu doze mai mici sau *suprimarea mitozei* la doze mai mari. Se observă (fig. 12.12) că radiosensibilitatea celulei variază în timpul diferitelor faze ale ciclului celular de diviziune : este maximă în timpul mitozei și minimă în cursul fazei $G_2$ a ciclului celular ;

— *moarte celulară* întîrziată sau imediată : după o iradiere cu doze de cîteva zeci de krad, se poate observa pierderea oricărei activități metabo-

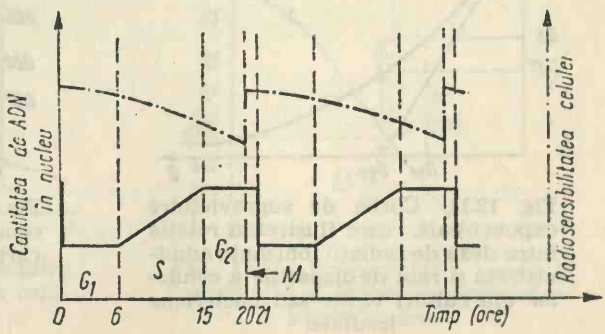



Fig. 12.12. Variația radiosensibilității celulei în cursul ciclului celular (la mamifere).

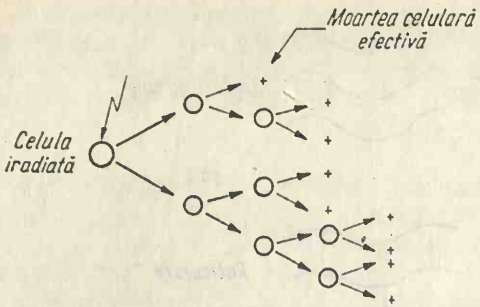



Fig. 12.13. Moartea întîrziată a celulei, care apare prin pierderea capacității de diviziune celulară, după una sau mai multe generații.

lice, sau moartea imediată a unei celule. Pentru doze mai mici (cele utilizate în radioterapie), celula deși mai menține o activitate metabolică încetează să se dividă după una sau mai multe mitoze și descendența dispare ; aceasta este moartea întîrziată, ce corespunde pierderii capacității de proliferare (fig. 12.13).

Proprietățile de radiosensibilitate ale celulelor sînt descrise de *legea Bergonié-Tribondeau*, care rezumă astfel rezultatele obținute experimental : *o celulă este cu atît mai sensibilă la radiații, cu cît intensitatea proceselor sale de creștere este mai mare, cu cît celula se află într-un stadiu mai timpuriu al procesului de diviziune celulară și cu cît este mai nediferențiată.* În toate aceste efecte se presupune că se produce inhibarea sintezei ADN, ARN și a proteinelor enzimatice sau structurale.

Astfel se justifică tratamentul prin iradiere al tumorilor maligne ; acestea fiind un țesut dediferențiat, sînt mai radiosensibile decît țesuturile înconjurătoare. Pe de altă parte, activitatea mitotică intensă din sistemul hematopoetic determină sensibilitatea mare la radiații a acestuia.

Relația între doza administrată și rata de dispariție a celulelor dintr-o cultură iradiată este ilustrată prin *curbele de supraviețuire*, care reprezintă variația fracțiunii de celule supraviețuitoare dintr-o populație celulară în funcție de doză. Experimental, s-au găsit mai multe forme de astfel de curbe :

*Curba de supraviețuire exponențială* (fig. 12.14) devine o reprezentare semilogaritmică (fig. 12.15). Dacă $N_0$ este

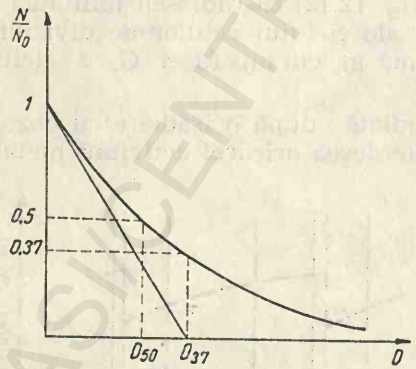



Fig. 12.14. Curba de supraviețuire exponențială, care ilustrează relația între doza de radiații ionizante administrată și rata de dispariție a celulelor din culturi virale sau bacteriene iradiate.

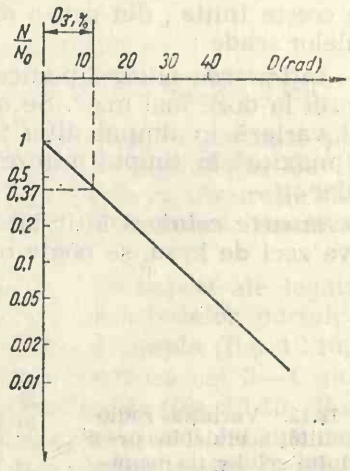



Fig. 12.15. Reprezentarea în coordonate semilogaritmice a curbei exponențiale de supraviețuire.

numărul inițial de celule și $N$ este numărul de celule care supraviețuiesc după o doză $(D)$, ecuația curbei este :

$$N = N_0 e^{-D/D_{37\%}},$$

unde $D_{37\%}$ este doza care lasă 37% de supraviețuitori. Cînd $D = D_{37\%}$, atunci $\frac{N}{N_0} = \frac{1}{e} \approx 0{,}37$.

$D_{37\%}$ este și inversul pantei drepte din reprezentarea semilogaritmică :

$$\ln \frac{N}{N_0} = \frac{D}{D_{37\%}}.$$

$D_{37\%}$ definește, astfel, radiosensibilitatea celulelor. Acest parametru scade, cu cît celulele sînt mai radiosensibile.

Acest tip de curbă se întîlnește mai ales la populațiile virale și bacteriene.

*Curba de supraviețuire sigmoidă* (fig. 12.16), care în reprezentare semilogaritmică (fig. 12.17) are o parte inițială curbă urmată de o parte liniară (exponențială), este caracteristică pentru celulele de mamifere. Partea liniară este caracterizată, ca și curba exponențială, prin doza $D_{37\%}$ : adică doza care reduce, în partea liniară a curbei, numărul de celule de la $N$ la $N/e$ ; partea curbă este caracterizată prin numărul de extrapolare $n$, care se obține prelungind partea liniară a curbei pînă la intersecția ei cu ordonata.

Acești doi parametri $D_{37\%}$ și $n$ dau posibilitatea comparării radiosensibilității a două tipuri celulare diferite, sau a unui tip celular situat în condiții celulare diferite.

Pe baza acestor două tipuri de curbe de supraviețuire s-au propus două ipoteze explicative ale morții celulare imediate sau întîrziate în urma iradierii, ipoteze ce oferă un suport conceptual celor două tipuri diferite de relații care apar între rezultatele experimentale.

Cele două ipoteze conduc la exprimarea acestor relații prin funcții matematice care permit efectuarea unor calcule predictive, atunci cînd rezul-

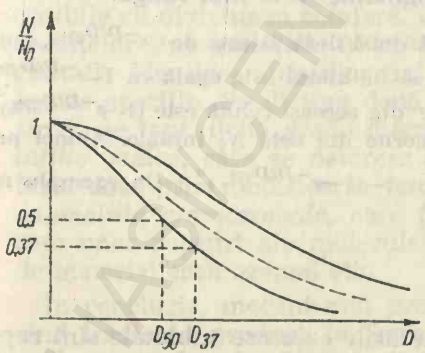



Fig. 12.16. Curba de supraviețuire sigmoidă, caracteristică pentru celulele de mamifere.

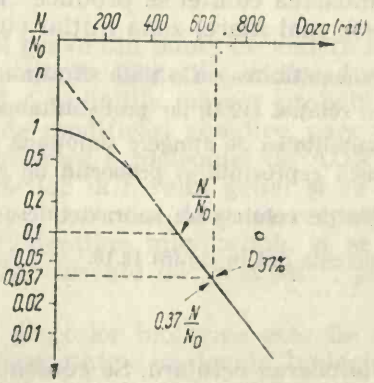



Fig. 12.17. Reprezentarea semilogaritmică a curbei sigmoide de supraviețuire.

tatele experimentale lipsesc și stimulează cercetarea pentru a stabili corespondențe cu realitatea biologică.

*Ipoteza cu 1 țintă letală.* S-a arătat că, în cazul microorganismelor, supraviețuirea celulară depinde, în mod exponențial, de doza administrată. O astfel de relație apare dacă considerăm că fiecare celulă conține o structură sensibilă („ținta"), care fiind atinsă (în mod aleator) cauzează moartea celulei.

Dacă $N_0$ este numărul inițial de celule și $N$ numărul de celule supraviețuitoare după doza $D$, o creștere $dD$ a dozei mărește numărul de ținte ($dN$) atinse ; $dN$ este proporțional cu $N$ și $dD$ ; coeficientul de proporționalitate (egal cu $1/D_{37\%}$) exprimă probabilitatea de a nimeri ținta, adică radiosensibilitatea celulei.

Variația numărului $N$ de celule care supraviețuiesc este, deci :

$$dN = -\frac{1}{D_{37\%}} N dD.$$

Integrînd această relație, se obține :

$$\frac{N}{N_0} = e^{-D/D_{37\%}} \qquad (12.1)$$

unde $N/N_0$ reprezintă probabilitatea de supraviețuire a unei celule, dacă $N_0$ este suficient de mare (pentru numere mari frecvența relativă tinde să devină egală cu probabilitatea).

*Ipoteza cu n ținte subletale.* Curba sigmoidă de supraviețuire a necesitat elaborarea acestei ipoteze. Zona inițială a curbei arată că, pentru creșteri de doză egale, rata mortalității devine tot mai mare (în curba exponențială aceasta rămîne constantă) ca, de exemplu, doza ce reduce supraviețuirea de la 100% la 90% este mai mare ca doza ce reduce supraviețuirea de la 50% la 40%. Acest fapt sugerează că un număr de leziuni, care, luate individual, nu sînt mortale (sînt subletale), trebuie să se acumuleze pentru a se produce moartea celulei.

Această ipoteză presupune că fiecare celulă conține $n$ ținte subletale și că moartea celulei se produce cînd toate aceste ținte au fost atinse. Cu cît $n$ este mai mare, zona inițial curbă a sigmoidei este mai lungă.

Probabilitatea ca o țintă să rămînă intactă după doza $D$ este de $e^{-D/D_{37\%}}$, conform relației (12.1), iar probabilitatea ca ea să fie atinsă este egală cu $1-e^{-D/D_{37\%}}$ ; probabilitatea de atingere simultană a $n$ ținte din aceeași celulă este $(1-e^{-D/D_{37\%}})^n$ ; aceasta reprezintă și proporția de celule omorîte din cele $N_0$ inițiale. Atunci proporția de celule care supraviețuiesc este : $\frac{N}{N_0} = 1-(1-e^{-D/D_{37\%}})^n$ . Un exemplu numeric este dat în figura 12.18.

*

*Refacerea celulară.* Se constată că alterările celulare subletale sînt reparabile într-un interval de cîteva ore. Dacă doza a 2-a (fig. 12.18) este administrată nu imediat, ci după cîteva ore, se constată că 25% din celule supraviețuiesc. Această „refacere" celulară are ca interes practic faptul că

o doză totală necesară pentru a obține un anumit efect este mai mare dacă iradierea se administrează fracționat, decît dacă se dă ca o doză unică.

Trebuie spus că mecanismele biologice ale apariției alterărilor datorate iradierii nu sînt încă elucidate. În foarte puține cazuri (virusuri) s-a putut stabili o corespondență între țința „letală" postulată prin ipoteză și o structură biologică cunoscută (întregul genom). La flagelate au mai fost identificate ca ținte și alte structuri biologice care, iradiate, determină modificări ale funcției celulare în care sînt angrenate : centrozomul, după a cărui iradiere se oprește mitoza și mastigozomul care, după iradiere, provoacă oprirea mobilității flagelatelor.

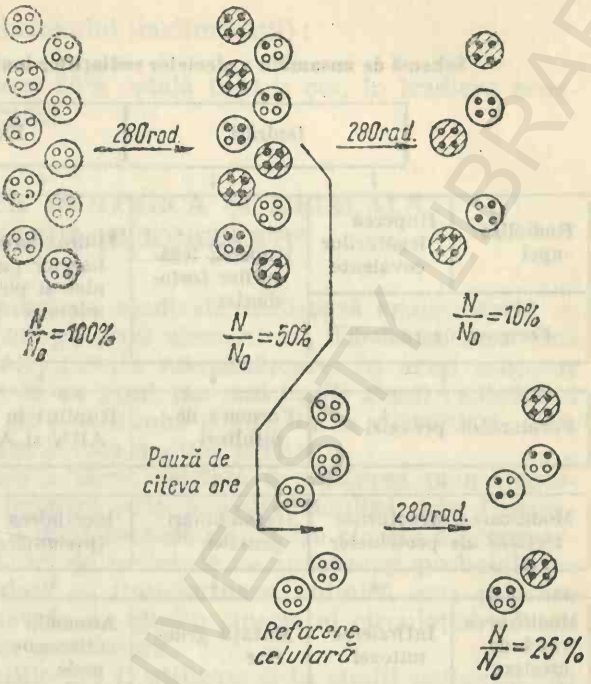



Fig. 12.18. Efectele iradierii fracționate. Dacă $n=4$ și $D_{37\%}=150$ razi, se poate calcula că pentru o doză de 280 razi 50% din celule au cele 4 ținte atinse și sînt omorîte. Majoritatea celorlalte celule sînt atinse pe 1, 2 sau 3 ținte; dacă acestea mai suferă 3, 2 sau 1 atingeri suplimentare, vor fi omorîte. Dacă se continuă iradierea pînă la 560 razi, această a 2-a iradiere de 280 razi este mai eficace decît prima : 80% din celulele supraviețuitoare vor fi omorîte, vor rămîne, deci, 10% din numărul de celule inițiale.

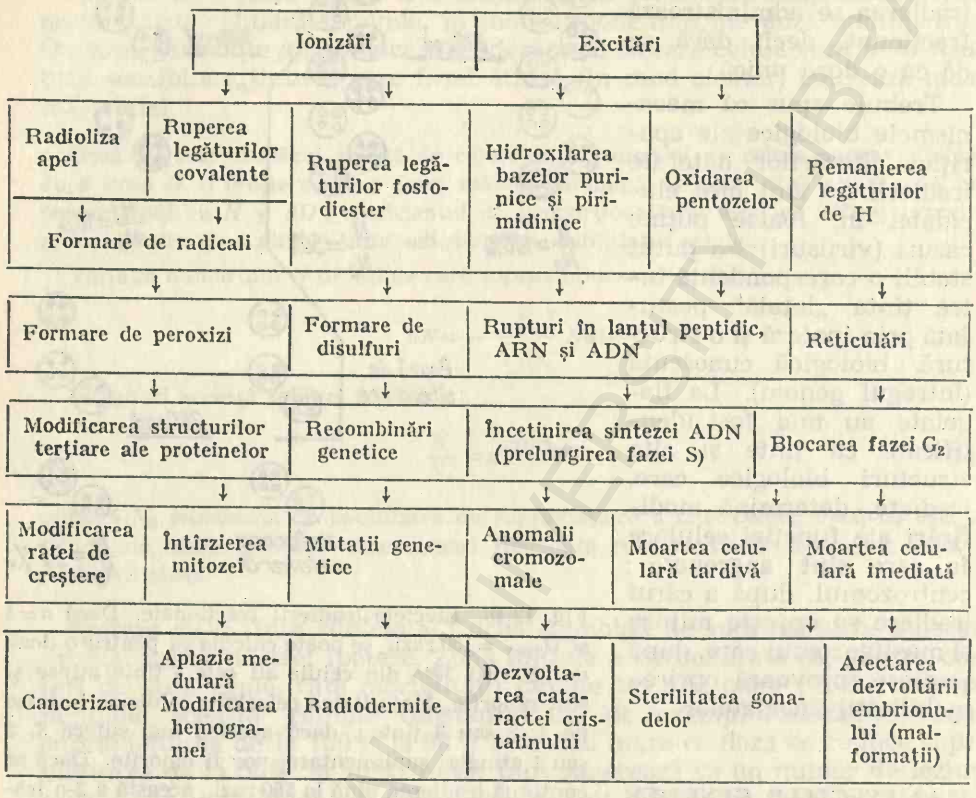
### 12.4.2. EFECTELE GENETICE

*Mutațiile genetice* sînt de cele mai multe ori letale, dar unele sînt compatibile cu diviziunea celulară. Cele mai grave din punct de vedere al consecințelor sînt *mutațiile în celulele germinale*. Mutațiile radioinduse sînt calitativ identice mutațiilor naturale, dar radiațiile măresc probabilitatea lor de apariție. Se disting două tipuri de modificări genetice, care reprezintă, de fapt, două grade diferite de alterare a moleculei de ADN : *mutațiile genice*, care se datoresc modificărilor la nivelul genei și se manifestă doar prin modificarea unui caracter controlat de gena respectivă și *anomaliile cromozomale*, care pot fi evidențiate microscopic și se datoresc unor rupturi ale moleculei de ADN, urmate de „resudări", pierderi de material cromozomal etc.

În concluzie, mecanismul producerii efectelor biologice este fie *direct*, cînd iradierea produce ionizarea atomilor dintr-o moleculă biologică, fie *indirect*, cînd radicalii formați în mediul biologic acționează asupra unei biomolecule, fie *la distanță*, cînd organele iradiate produc toxine ce au efecte nocive asupra organelor neiradiate (tab. 12.3).

*Tabelul 12.3*

**Schemă de ansamblu a efectelor radiațiilor ionizante asupra organismelor**




Se observă că radiosensibilitatea țesuturilor variază, cele cu activitate mare sau în mitoză fiind mai sensibile. De aceea, organismele tinere sînt mai sensibile. S-a stabilit o serie prioritară a radiorezistenței organelor : sînge, organe hematopoetice, organe de reproducere, mucoase, plămîni, rinichi, mușchi, oase, țesut nervos. Radiosensibilitatea crește la animalele superioare din punct de vedere filogenetic.

### 12.4.3. EFECTELE IRADIERII ACCIDENTALE

Iradierea accidentală are ca manifestări radiopatologice :

— afectarea organelor hematopoetice, cu semne de aplazie medulară și modificări esențiale în hemogramă : neutropenie, leucopenie, anemie, trombopenie ;

— radiodermite precoce sau tardive ;

— afectarea cristalinului prin dezvoltarea cataractei ;

— sterilitate feminină prin suprimarea menstruației și masculină prin azoospermie, manifestări temporare sau definitive, în funcție de doză ;

— afectarea dezvoltării embrionului (malformații);
— cancerizarea.

Doza de 400—500 R este doza 50% letală pentru om, în iradiere generală, dată odată (a întregului corp).

## 12.5. UTILIZAREA BIOLOGICĂ ȘI MEDICALĂ A RADIAȚIILOR IONIZANTE

Cercetarea biologică și explorarea medicală utilizează radioizotopii ca „trasori", folosind faptul că izotopii unui element au, din cauza structurii electronice identice, proprietăți chimice asemănătoare. În acest scop, se sintetizează molecule marcate ce au unul sau mai mulți atomi radioactivi în compoziția lor, lucru care nu le schimbă comportarea chimică și, deci, nu afectează ciclurile biochimice la care acestea participă.

Tehnica moleculelor marcate a făcut posibilă dezvoltarea unor procedeuri analitice în biochimie (analiza prin activare, analiza prin fluorescență X, radiocromatografia), a unor metode de studiu cinetic a „compartimentelor biologice" (ansambluri de molecule ce au aceeași probabilitate de a suferi o transformare dată — transformare chimică sau migrare printr-o „barieră"), a unor metode de studiu cinetic al circulației pentru măsurarea vitezelor și debitelor circulatorii.

Moleculele marcate și radiațiile pot fi utilizate și în studii sau explorări medicale morfologice, prin tehnicile de autoradiografie, scintigrafie și radiografie.

Cercetarea biologică și terapia medicală folosesc efectele produse de radiațiile ionizante, pe de-o parte pentru a clarifica mecanismele lor de acțiune fie nocivă, fie utilă (stimularea germinației semințelor, de exemplu) și, pe de altă parte, în tratamentul tumorilor maligne, care are ca scop distrugerea selectivă și completă a populației de celule canceroase.

## 12.6. NOȚIUNI DE PROTECȚIE ÎMPOTRIVA RADIAȚIILOR IONIZANTE

Limitarea pericolului pe care îl reprezintă acțiunea radiațiilor ionizante asupra organismelor vii se poate face pe 2 căi mai importante : *a*) micșorînd sau chiar remediind efectele deja produse ; *b*) reducînd gradul de iradiere prin prevenirea poluării radioactive a mediului.

### 12.6.1. ELEMENTE DE RADIOPROTECȚIE

Protecția contra efectelor nocive produse de radiațiile ionizante se poate face în mai multe feluri, în funcție de mijloacele care se folosesc :

**Protecția fizică.** Se realizează prin mijloace adecvate de reducere a dozei de iradiere la valoarea permisă, cum sînt : ecranarea, mărirea distanței și scurtarea timpului de expunere, alături de ansamblul măsurilor de organizare a lucrului cu surse radioactive.

Se știe că activitatea surselor ($\Lambda$) scade invers proporțional cu pătratul distanței ($d$) :

$$\frac{\Lambda_1}{\Lambda_2} = \frac{d_2^2}{d_1^2},$$

unde $\Lambda_1$ este activitatea sursei la distanța $d_1$ și $\Lambda_2$ este activitatea surselor la distanța $d_2$.

*Mărirea distanței* poate asigura o protecție bună pentru sursele $\alpha$, $\beta$, în cazul iradierii externe. Acest lucru se realizează și prin sisteme de telemanipulare, care pot fi simple pense și cleşti sau pot ajunge pînă la utilizarea unor „mîini mecanice" cu care se manevrează sursele de mare radioactivitate.

*Scurtarea la minimum a timpului de expunere* la radiații poate fi realizată dacă operațiile care se fac cu surse radioactive sînt minuțios pregătite anterior.

*Ecranarea* este mijlocul cel mai eficace de protecție fizică. Radiațiile $\alpha$ se ecranează ușor ; datorită *TLE* mare ele au un parcurs mic, de ordinul micronilor. Mănușile de cauciuc sînt suficiente pentru oprirea lor. Pentru oprirea completă a radiațiilor $\beta$ se folosesc ecrane cu grosime mai mare decît parcursul lor, din materiale cu procent mare de H (bachelită, materiale plastice). În nici un caz nu trebuie utilizate substanțe cu număr atomic Z mare (plumb), deoarece în acestea crește probabilitatea apariției radiațiilor de frînare care sînt foarte penetrante.

În cazul radiațiilor $\gamma$ și X scopul ecranării este de a reduce intensitatea acestor radiații sub doza maximă permisă, sau chiar pînă la valoarea fondului natural de radiații. Materialele folosite sînt de preferință cele cu număr atomic Z mare, în care probabilitatea de interacțiune cu electronii orbitali crește : plumb sau fier. Se utilizează și ecrane din beton sau sticlă.

**Protecția chimică.** Se realizează prin substanțe (*radioprotectori chimici*) care, administrate imediat înaintea iradierii, măresc radiorezistența organismului, producînd următoarele modificări :

— inhibă sau fixează radicalii radiolitici (*radioprotectori hidrosolubili :* compuși cu sulf ca cisteamina și cistamina) ;

— diminuează oxigenul intra- și extracelular (*radioprotectori liposolubili :* derivați ai pirogalolului și naftolului) ;

— micșorează conținutul de apă, mai ales în organele radiosensibile ;

— împiedică organele integratoare din organism să amplifice efectele.

**Protecția biochimică.** Se asigură prin preparate sau macromolecule biologic active (ADN, de exemplu) care, administrate imediat după iradiere, diminuează efectul nociv al radiațiilor și favorizează refacerea celulară.

**Protecția biologică.** Se face prin celule viabile (în special celule medulare) care, administrate după iradiere, favorizează refacerea funcției hematopoetice, grav afectată de acțiunea radiațiilor. Acest gen de protecție ridică, însă, serioase probleme de compatibilitate imunologică.

### 12.6.2. POLUAREA RADIOACTIVĂ A MEDIULUI

Creșterea și diversificarea rapidă a utilizării izotopilor radioactivi și a energiei nucleare în scopuri pașnice merge paralel cu creșterea riscului de radiocontaminare a mediului și, deci, a organismelor vii. De asemenea,

experiențele cu diferite tipuri de arme nucleare eliberează o gamă largă de produse de fisiune radioactive, multe din ele fiind antrenate în procesele de circulație în biosferă. Poluarea radioactivă accidentală a mediului se poate produce și prin defectarea instalațiilor nucleare.

*Radionuclizii,* ajunși în atmosferă, apă și sol afectează biosfera prin lanțurile trofice, fiind transferați și în organismul uman (fig. 12.19).

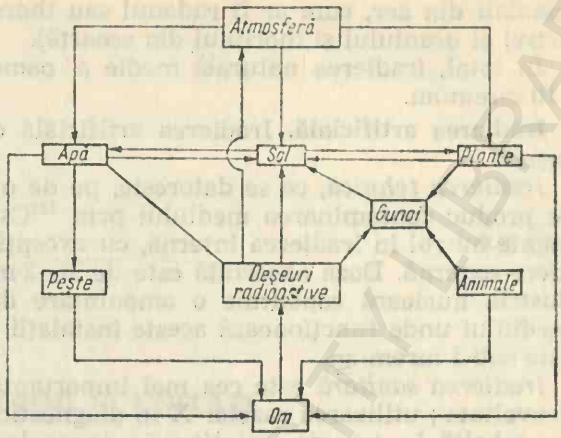



Fig. 12.19. Ciclul radioelementelor în procesul de radiocontaminare a mediului și a lanțurilor alimentare.

Există 3 radionuclizi importanți în acest proces de radiocontaminare, din cauză că se absorb în tubul digestiv cu viteză destul de mare și că timpul lor de înjumătățire fizic și biologic este destul de lung : $^{90}Sr$ cu fixare în oase, unde, datorită radiației β emise, inhibă hematopoeza ducînd la leucemie ($T_{1/2}=28$ ani) ; $^{137}Cs$, care circulă în organism și se fixează în mușchi ($T_{1/2}=30$ ani) și $^{131}I$, ce se acumulează în tiroidă ($T_{1/2}=8{,}1$ zile).

Alimentele care introduc acești radionuclizi în organismul uman sînt : laptele și derivatele sale pentru $^{90}Sr$ (similar calciului), alimente vegetale pentru $^{137}Cs$ (similar potasiului) și carnea pentru $^{90}Sr$ și $^{137}Cs$.

### 12.6.3. SURSE DE IRADIERE UMANĂ

Organismul uman poate fi iradiat *extern* (tub de raxe X, „bomba" de cobalt, surse radioactive, surse de neutroni) sau *intern,* dacă sursa se află în interiorul organismului unde a ajuns prin contaminare pe cale digestivă, respiratorie sau cutanată.

**Iradierea naturală.** Are mai multe componente care, în măsurătorile radiometrice, sînt grupate sub numele de *fond natural de radiații.* Acestea sînt :

— *radiația cosmică,* ce interacționează cu aerul din atmosferă producînd o iradiere secundară ce reprezintă 1/3 din valoarea „fondului". Se admite că doza absorbită, în medie, la zero metri altitudine este de 28 mrad/an, pentru componenta ionizantă a radiației cosmice și de 1 mrad/an, pentru neutroni. Dacă se ține cont de efectivitatea biologică relativă, se găsește o doză de 38 mrem/an. Debitul dozei se dublează aproximativ pentru fiecare 1 500 m altitudine ;

— radiațiile emise de *substanțele radioactive* din pămînt, apa de băut, materiale de construcție (ce conțin uraniu și thoriu) (50 mrem/an) ;

— radiațiile emise de *radionuclizii din organism,* cum sînt $^{40}K$ și, mai puțin, $^{14}C$ sau $^{226}Ra$, care totalizează 20 mrem/an, cît și de radionuclizii

inhalați din aer, cum ar fi radonul sau thoronul (emiși de produșii radioactivi ai uraniului și thoriului din scoarță).

În total, iradierea naturală medie a oamenilor se apreciază a fi de 110 mrem/an.

**Iradierea artificială.** Iradierea artificială de origine *neprofesională* cuprinde :

*Iradierea tehnică*, ce se datorește, pe de o parte, experiențelor nucleare ce produc contaminarea mediului prin $^{137}Cs$, $^{90}Sr$, $^{89}Sr$ și $^{14}C$. Aceste elemente au rol în iradierea internă, cu excepția $^{137}Cs$, care produce și o iradiere externă. Doza absorbită este de 1—2 mrem/an. Pe de altă parte, industria nucleară constituie o amenințare de contaminare permanentă a mediului unde funcționează aceste instalații (apă, aer, sol). Doza absorbită este sub 1 mrem/an.

*Iradierea sanitară* este cea mai importantă cauză de iradiere din țările dezvoltate ; utilizarea razelor X în diagnostic și terapie, utilizarea „bombei de cobalt" în terapie, scintigrafia organelor, explorările funcționale (de exemplu, iodocaptarea tiroidiană) sînt cîteva exemple de iradiere medicală. Pentru ilustrare, dăm cîteva valori de doze absorbite în astfel de condiții, valori ce trebuie comparate cu dozele maxime admise (v. tab. 12.2) :

| | | |
|---|---|---|
| radiografie pulmonară | : | 0,5— 2 rem |
| radiografie dentară | : | 2— 15 rem |
| examinare fluoroscopică | : | 5— 60 rem |
| cobaltoterapia unei tumori maligne | : | 3 000—7 000 rem (localizat) |

*Iradieri diverse* produse de ecrane luminiscente de ceas, ecrane TV, folosirea razelor Röntgen în alte scopuri decît cele medicale.

Responsabilitatea utilizării judicioase și cu precauție maximă a tehnicilor care utilizează radionuclizii în scopuri experimentale, sanitare sau de producere a energiei revine celor care lucrează în aceste domenii, dar și restului populației care trebuie să cunoască atît avantajele, cît și riscurile pe care le comportă folosirea surselor de radiații ionizante.

**BIBLIOGRAFIE**


Baran, T. (Capit. XV) și Baran, T., Turcu, Gr. (Anexa 3). În : *Biofizica Medicală* (sub red. Prof. dr. docent V. Vasilescu). Editura didactică și pedagogică, București, 1977.

Oncescu, M. *Detectarea radiațiilor nucleare* (note de curs). C.U.I.R., 1974.

Grémy, F., Perrin, J. *Eléments de biophysique*, vol. II. Édit. Flammarion, Paris, 1971.

Herforth, L., Koch, H. *Praktikum der angewandten Radioaktivität*. VEB Berlin, 1968.

Dutreix, J., Desgrez, A., Bok, B., Chevalier, C. *Physique et biophysique*, vol. IV. Édit. Masson et C-ie, Paris, 1973.

* * * *Radiobiologia*. Editura științifică, București, 1970.

Adam, G., Läuger, P., Stark, G. *Physikalische Chemie und Biophysik*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1977.

Anexa I

## MĂRIMI ȘI UNITĂȚI

Biofizica este domeniul biologic în care se manifestă cel mai evident necesitatea exprimării cantitative a parametrilor ce caracterizează sistemele biologice. În diferitele capitole ale acestei lucrări au fost utilizate numeroase mărimi de natură fizică (de exemplu, lungimea de undă a unei radiații), fizico-chimică (de exemplu, concentrația unei substanțe într-o soluție), sau de natură biofizică, așa cum ar fi viteza de propagare a influxului nervos, doza biologică de radiații etc. Majoritatea acestor mărimi au fost definite în respectivele capitole, unde au fost arătate și unitățile de măsură în care se exprimă. De aceea, în această anexă introducem sau reamintim numai unele noțiuni de bază.

*Măsurarea* oricărei mărimi — indiferent de natura ei — înseamnă compararea cu o mărime etalon de exact același tip, considerată unitate de măsură.

Majoritatea mărimilor întîlnite în studiul oricărui aspect al naturii pot fi exprimate prin combinarea cîtorva mărimi fizice fundamentale, care le determină *dimensiunile*. Acestea sînt: lungimea, timpul, masa, temperatura, intensitatea curentului electric și intensitatea luminoasă. La acestea se mai adaugă uneori și unghiul plan, unghiul din spațiu și cantitatea din orice substanță care conține același număr de molecule. Prin intermediul acestor *mărimi fundamentale* putem defini și exprima numeroase alte *mărimi derivate*. De exemplu, un flux de substanță se definește drept „masa de substanță care traversează unitatea de suprafață în unitatea de timp", deci are dimensiunile: masă/(lungime)$^2$×timp.

Menționăm faptul că studiul dimensiunilor diferitelor mărimi — *analiza dimensională* —, care și-a dovedit utilitatea certă pentru tehnică, găsește o largă aplicare în biologia cantitativă, pentru stabilirea pe cale predictivă a multor parametri morfologici și fiziologici ai organismelor. O amplă monografie clasică pe această temă este *On Growth and Form*, de D'Arcy W. Thompson, iar ca un studiu de sinteză mai nou amintim: *Dimensional Analysis and Theory of Biological Similarity*, de B. Günther, în: „Physiological Reviews", vol. 55, p. 659, 1975.

În descrierea fenomenelor naturale intervin și *numere „pure"*, adică mărimi fără dimensiuni. Astfel sînt cantitățile care rezultă dintr-o simplă numărare, de exemplu un număr de molecule, de indivizi, de cicluri etc. Tot adimensionale sînt și cantitățile ce exprimă raportul între mărimi de același tip, ca, de exemplu, numărul $\pi$ (circumferință/diametru) și funcțiile trigonometrice (latură/latură).

Aceeași mărime poate fi exprimată în diferite unități de măsură între care există relații de convertire, dar un singur sistem de unități este recunoscut în prezent ca

legal, *sistemul internațional* (S.I.), legiferat în țara noastră în august 1961. În tabelul I.1 sînt incluse principalele mărimi fizice utilizate în acest curs, împreună cu unitățile lor de măsură în S.I.

*Tabelul I.1*

| Mărimea | Unitatea și simbolul | Dimensiunile mărimii |
|---|---|---|
| **I. Mărimi fundamentale** | | |
| Lungime (L) | metru (m) | L |
| Timp (T) | secundă (s) | T |
| Masă (M) | kilogram (kg) | M |
| Temperatură ($\theta$) | kelvin (K) | $\theta$ |
| Intensitatea curentului electric (I) | amper (A) | I |
| Intensitatea luminoasă | candelă (cd) | |
| **II. Mărimi derivate** | | |
| a) *Mecanice* | | |
| Viteză | m/s | $LT^{-1}$ |
| Accelerație | $m/s^2$ | $LT^{-2}$ |
| Forță | newton : $N=kg \cdot m/s^2$ | $MLT^{-2}$ |
| Presiune | $N/m^2$ | $ML^{-1}T^{-2}$ |
| Energie ; lucru mecanic | joule : $J=N \cdot m$ | $ML^2T^{-2}$ |
| Putere | watt : $W=J/s$ | $ML^2T^{-3}$ |
| Perioadă a oscilațiilor | s | T |
| Frecvență a oscilațiilor | hertz : $Hz=1/s$ | $T^{-1}$ |
| b) *Termice* | | |
| Cantitate de căldură | J | $ML^2T^{-2}$ |
| Entropie | J/K | $ML^2T^{-2}\theta^{-1}$ |
| Căldură specifică | $J/kg \cdot K$ | $L^2T^{-2}\theta^{-1}$ |
| Căldură latentă | J/kg | $L^2T^{-2}$ |
| Conductibilitate termică | $W/m \cdot K$ | $MLT^{-3}\theta^{-1}$ |
| c) *Electrice și magnetice* | | |
| Cantitate de electricitate | coulomb : $C=A\ s$ | IT |
| Tensiune electrică (diferență de potențial) | volt : $V=W/A$ | $ML^2T^{-3}I^{-1}$ |
| Intensitate a cîmpului electric | V/m | $MLT^{-3}I^{-1}$ |
| Rezistență electrică | ohm : $\Omega=V/A$ | $ML^2T^{-3}I^{-2}$ |
| Conductanță | siemens : $S=\Omega^{-1}=mho$ | $M^{-1}L^{-2}T^3I^2$ |
| Capacitate electrică | farad : $F=C/V$ | $M^{-1}L^{-2}T^4$ |
| Intensitatea cîmpului magnetic | A/m | $IL^{-1}$ |
| Inducție magnetică | tesla : $T=V\ s/m^2$ | $MT^{-2}I^{-1}$ |
| Inductanță | henry : $H=V\ s/A$ | $ML^2T^{-2}I^2$ |

Unitățile din S.I. sînt uneori fie prea mari, fie prea mici pentru a exprima valorile mărimilor care apar în diferite probleme concrete și, de aceea, este practic să se utilizeze și submultipli și multipli ai lor. Aceștia sînt desemnați prin prefixe și simboluri atașate respectivei unități. Principalii submultipli și multipli se desemnează astfel :

*pico* (p) $=10^{-12}$ (de exemplu, $1\ pF=10^{-12}\ F$)
*nano* (n) $=10^{-9}$ (de exemplu, $1\ nm=10^{-9}\ m$)
*micro* ($\mu$) $=10^{-6}$ (de exemplu, $1\ \mu V=10^{-6}\ V$)
*mili* (m) $=10^{-3}$ (de exemplu, $1\ ms=10^{-3}\ s$)
*kilo* (k) $=10^{3}$ (de exemplu, $1\ kJ=10^{3}\ J$)
*mega* (M) $=10^{6}$ (de exemplu, $1\ MHz=10^{6}\ Hz$).



BCU IAȘI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

În formularea legilor fizice și chimice generale, valabile pentru cîte un tip întreg de fenomene, indiferent de natura particulară a sistemului în care se desfășoară, apar *constante universale* ce exprimă proprietăți fundamentale ale materiei. Principalele constante universale întîlnite în acest manual sînt :

*Numărul lui Avogadro :* $N_A = 6{,}02 \cdot 10^{26}$ kmol$^{-1}$
*Volumul normal al unui kmol de gaz ideal :* 22,41 m$^3$·kmol$^{-1}$
*Constanta universală a gazelor :* $R = 8\,310$ J·kmol$^{-1}$·K$^{-1}$
*Constanta lui Boltzmann :* $k = 1{,}38 \cdot 10^{-23}$ J·K$^{-1}$
*Numărul lui Faraday :* $F = 9{,}65 \cdot 10^7$ C·kmol$^{-1}$
*Sarcina electrică elementară :* $e = 1{,}60 \cdot 10^{-19}$ C
*Viteza luminii în vid :* $c = 3 \cdot 10^8$ m·s$^{-1}$
*Permitivitatea dielectrică a vidului :* $\varepsilon_0 = 8{,}85 \cdot 10^{-12}$ F·m$^{-1}$
*Unitatea atomică de masă :* $u = 1{,}66 \cdot 10^{-27}$ kg
*Constanta lui Planck :* $h = 6{,}62 \cdot 10^{-34}$ J·s.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Anexa II

## NOȚIUNI DE HEMODINAMICĂ

Înțelegerea procesului circulației sanguine trebuie să se bazeze pe cunoașterea legilor fizice privind comportarea fluidelor în repaus și în mișcare. Prin lucrările sale asupra curgerii apei prin tuburi rigide, Poiseuille a pus bazele *reologiei*, știință care se ocupă cu studiul curgerii fluidelor vîscoase.

Aplicarea acestor legi fizice la circulația sanguină creează multe complicații, deoarece sîngele este un lichid heterogen, complex, cu unele proprietăți anormale de viscozitate. Vasele sanguine nu sînt tuburi rigide, ci sînt extrem de extensibile, astfel că dimensiunile lor depind de presiunea intravasculară și de contracția mușchilor netezi din pereții vasului. În majoritatea porțiunilor patului vascular curentul nu este constant, ci pulsatil.

Aceste situații complexe aduc după ele o complicare a mecanismului de înțelegere a dinamicii circulației.

*

Un fluid este o substanță care nu poate rezista în mod permanent nici celei mai slabe *forțe de forfecare* care tinde să-i modifice forma și să producă alunecarea unui strat component pe un altul vecin.

Deoarece pereții vaselor sanguine au multe din proprietățile solidelor, precum și unele proprietăți ale lichidelor, în hemodinamică trebuie să ne ocupăm atît de elasticitate, cît și de viscozitate (ce poate fi considerată ca un fel de elasticitate tranzitorie).

**Hidrostatica.** Problemele de hidrostatică au fost studiate de către fizicianul și matematicianul francez B. Pascal (1623—1662), care a recunoscut importanța *presiunii hidrostatice* — forța exercitată de către un lichid pe unitatea de suprafață (dyne/cm$^2$). Pascal a stabilit următoarele trei legi :

1. *Într-un punct dat, presiunea hidrostatică este egală în toate direcțiile* : lichidul „împinge" lateral, în sus sau în jos orice obstacol dintr-un punct dat, cu aceeași presiune.

2. *În punctele situate în același plan orizontal, presiunile hidrostatice sînt egale.* Suprafața liberă a lichidului este un caz special; acolo peste tot presiunea este cea atmosferică.

3. *Presiunea hidrostatică crește odată cu adîncimea:* Într-un lichid în stare de repaus, asupra căruia se exercită forța gravitației, presiunea crește în mod uniform odată cu adîncimea. Această creștere este dată de :

$$\rho \cdot g \cdot h \text{ dyne/cm}^2,$$

în care $\rho$ este densitatea lichidului (g/ml), $g$ este accelerația gravitației (980 cm/s$^2$), iar $h$ adîncimea (în cm).

Pe această lege se bazează utilizarea tipului de manometru cu tub în formă de „U", cu rezervor, în care presiunea este măsurată ca diferența dintre nivelele a două coloane de apă, de ser fiziologic sau de mercur, pe care le suportă. Acest tip de manometru oferă singurul mijloc de măsurare a presiunilor absolute, iar toate celelalte manometre ca, de exemplu, electromanometrul trebuie să fie marcate în comparație cu un manometru cu coloană de lichid.

*Presiunea absolută* (în dyne/cm$^2$) este obținută cu ajutorul formulei de mai sus. De exemplu, dacă se utilizează o coloană de mercur cu $\rho = 13{,}6$, presiunea care corespunde unui mm Hg este :

$$\rho \cdot h \cdot g = 13{,}6 \cdot 0{,}1 \cdot 980 = 1\,330 \text{ dyne/cm}^2.$$

În manometru ar putea fi folosită în mod alternativ o coloană de apă sau ser fiziologic ($\rho = 1{,}04$). Presiunea care corespunde unui cm de ser fiziologic este :

$$\rho \cdot g \cdot h = 1{,}04 \cdot 980 \cdot 1 = 1\,019 \text{ dyne/cm}^2.$$

Pentru ca o valoare exprimată în mm Hg să fie transformată în centimetri de ser fiziologic, ea trebuie să fie înmulțită cu fracția 13,6/1,04, astfel că presiunea unui mm Hg = 13,1 mm = presiunea a 1,31 cm de ser fiziologic. Densitatea sîngelui este de aproximativ 1,055, iar presiunea unui mm Hg corespunde presiunii a 1,29 cm de sînge. La nivelul inimii, presiunea arterială (sau pulsatilă) are o valoare medie de aproximativ 100 mm Hg. Această presiune va suporta o coloană de sînge înaltă de :

$$100 \cdot 13{,}6/1{,}05 \text{ mm} = 129 \text{ cm},$$

valoare găsită de Stephen Hales (1677—1761) în celebra sa experiență în cadrul căreia a cateterizat artera carotidă a unui cal și a conectat-o cu un tub vertical lung adaptat cu o trahee de gîscă.

Factorul hidrostatic $\rho gh$ este aplicabil la sistemul vascular. Rezistența la curgere în arterele și venele mari este foarte mică ; în consecință, curgerea sîngelui determină foarte mici căderi de presiune în aceste vase. Cînd corpul este în poziție orizontală, presiunile arteriale medii din creier și din picioare sînt aproximativ egale. În ortostatism, factorul hidrostatic reduce presiunea arterială din creier și o mărește pe cea din picioare.

Factorul $\rho gh$ este considerabil. Să presupunem că o arteră de la cap se află la 50 cm deasupra nivelului inimii ; în ortostatism, presiunea medie din această arteră nu este de 100 mm Hg, ci de 100—500/13, adică de aproximativ 62 mm Hg. În mod similar, presiunea arterială din picioare (130 cm sub nivelul inimii) poate fi de 100+1 300/13, adică de 200 mm Hg. Este evident că sînt necesare reflexe cardiovasculare foarte active pentru a face față modificărilor de presiune din aceste vase extensibile. Rezultă implicații directe în fiziologia specifică aviației, în legătură cu efectele accelerațiilor asupra piloților care execută acrobații aeriene de mare viteză. La începutul unui looping, accelerația centripetă se poate ridica — în valoare absolută — la un multiplu de $g$. În acel moment, sîngele are în mod efectiv o densitate corespunzătoare mai mare decît normală ; cu alte cuvinte, înlocuim coeficien-

tul $\rho gh$ prin acceleraţia centrifugă, care în acest caz este îndreptată spre picioare. Să presupunem că această acceleraţie este de 3 ori mai mare decît acceleraţia gravitaţiei (deci $3g$). La nivelul arterelor din cap, factorul $\rho gh$ are acum valoarea $3 \times 500/13$, adică 114 mm Hg. Scăzînd această valoare din presiunea medie de 100 mm Hg de la nivelul inimii, rezultă în mod cert că, în arterele cerebrale, există o presiune mai mică decît cea atmosferică ; aceasta înseamnă că nu este presiunea necesară pentru a ţine deschise arterele, astfel ca ele să poată asigura circulaţia sîngelui spre creier. Pe baza celor arătate mai sus s-ar putea prevedea că limita toleranţei umane la acceleraţie ($g$ pozitiv), fără apariţia fenomenelor de înceţoşare a vederii şi pierdere momentană a cunoştinţei datorată anoxiei cerebrale, trebuie să fie foarte apropiată de $3g$.

Dacă forţa acceleratoare este opusă forţei gravitaţionale şi de mărime egală (zbor în picaj cu motorul în mers), poate apărea starea de „imponderabilitate", care prezintă un mare interes în biologia cosmică, deoarece acest fenomen apare în „mişcarea liberă" a unui satelit artificial. În starea de imponderabilitate, coeficientul $g$ *al* factorului hidrostatic are în mod efectiv valoarea zero, iar presiunile din sistemul circulator vor fi independente de postură şi, probabil, aceleaşi ca în cazul în care omul este aşezat în plan orizontal. Cînd forţa gravitaţiei este depăşită în valoare absolută de această forţă acceleratoare opusă, presiunea sanguină din creier o depăşeşte pe cea normală. Congestionarea retinei produce o tulburare vizuală cunoscută sub numele de „red-out".

Factorul hidrostatic are aplicabilitate, deci, şi în sistemul venos, deşi este modificat prin acţiunea valvulelor din venele aferente periferice. Dacă o venă a piciorului este cateterizată şi conectată cu un tub vertical lung în care se află ser fiziologic, nivelul acestuia va creşte aproximativ pînă la nivelul inimii, în cazul că subiectul stă în picioare, nemişcat. Îndată ce muşchii piciorului se contractă ritmic, sîngele din vene este împins în sus prin valve şi nu se poate reîntoarce („pompa musculară"). Presiunea venoasă din picior scade atunci în mod pronunţat. Cînd corpul este imobil în ortostatism sau poziţie şezîndă, presiunea venoasă ridicată din vasele aferente va contribui la creşterea presiunii capilare şi va duce o deplasare de lichid din curentul sanguin spre ţesuturi (edem dependent).

Cînd presiunile arteriale sînt măsurate în braţ, picior sau în oricare altă parte, la un pacient care nu se află într-un plan orizontal, este necesar ca valorile obţinute să fie corectate în raport cu nivelul inimii în vederea comparării cu standardele care au la bază valori corecte la nivelul cardiac. Această corecţie se efectuează prin scăderea factorului $\rho gh$, în caz că locul măsurării se află sub nivelul inimii, sau prin adunarea acestui factor atunci cînd măsurarea se face într-un loc situat deasupra nivelului inimii. Se obţine o valoare aproximativă în mm Hg prin împărţirea diferenţei dintre nivele, măsurată în centimetri, cu cifra 13 (adică 13,6/1,055).

*Aplicarea „principiului sifonului"* în probleme de hidrostatică. Principiul sifonului a fost descoperit de Arhimede (287—212 î.e.n.) şi arată că curgerea unui lichid de la punctul $A$ pînă la punctul $B$ nu depinde de nivelurile porţiunii de tub dintre ele, ci numai de diferenţa dintre presiunile sau nivelurile punctelor $A$ şi $B$, cu condiţia să nu existe o întrerupere a coloanei de lichid.

Avînd în vedere aplicabilitatea principiului sifonului în mecanica circulaţiei sanguine, afirmaţia că circulaţia sanguină de întoarcere ar fi mai dificilă în ortostatism, din cauza sensului ei ascendent, intră în contradicţie cu fundamentele fizicii.

**Hidrodinamica.** Proprietatea fluidelor de a încetini modificarea formei lor se numeşte *viscozitate*, pe care Newton a definit-o drept *„lipsa de alunecare între straturi vecine de fluid"*. Deoarece există o „lipsă de alunecare" între straturile vecine,

stratul care se deplasează mai încet tinde să-l întîrzie pe acela care se deplasează mai repede, și invers. Prin forțele care acționează la nivelul straturilor, viscozitatea are următoarele dimensiuni: masa împărțită cu produsul dintre lungime și timp: $M \cdot L^{-1} \cdot T^{-1}$.

*Curgerea unui lichid vîscos printr-un tub; Legea lui Poiseuille.* Uneori se afirmă, în mod eronat, că este necesară o forță pentru a se produce mișcarea sîngelui prin vasele sanguine, deoarece există „frecare între sînge și pereții vaselor". Forța care împiedică mișcarea stratului de fluid situat în imediata apropiere a peretelui este *forța de coeziune* între lichid și solid, lichidul putînd uda parțial sau total acești pereți. Astfel, un strat infinit de subțire de sînge, aflat în contact cu peretele vasului sanguin, are o viteză nulă de curgere. Stratul următor, ceva mai apropiat de axă, are o viteză mică, stratul interior următor are o viteză mai mare și așa mai departe, pînă ce se ajunge la axă, unde viteza este maximă.

Deci, în timpul circulației, rezistența la curgere se datorează frecării interioare — viscozității și frecării de peretele vasului.

Cînd curentul este constant, deci cînd nu există nici accelerație, nici încetinire, în conformitate cu primele două legi ale mișcării date de Newton forța totală trebuie să fie nulă; așadar, trebuie să existe o forță opusă care să echilibreze forța $P_A - P_B) \cdot dA$, așa cum apare din figura II.1.

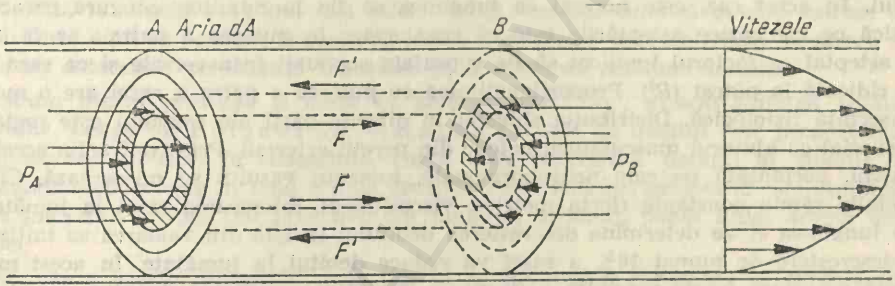



Fig. II.1. Diagrama curgerii în straturi cilindrice concentrice a unui lichid viscos printr-un tub. Este arătată distribuția parabolică a vitezelor. Forța $(P_A - P_B) \cdot dA$ este echilibrată de diferența dintre forțele de forfecare $F$ și $F'$. $F'$ este mai mare decît $F$, deoarece gradientul de viteză este mai mare în apropierea peretelui tubului; $P_A$ = presiunea în punctul de secțiune $A$; $P_B$ = presiunea în punctul de secțiune $B$.

Această forță de echilibrare este constituită de către forțele tangențiale, care se datorează viscozității straturilor vecine și aceste forțe satisfac ecuația lui Newton:

$$\frac{F_t}{S} = \eta \cdot \frac{dV}{dZ},$$

în care: $F_t$ = forța tangențială; $S$ = aria; $\eta$ = coeficientul de viscozitate; $\frac{dV}{dZ}$ = gradientul de viteză (egal cu forfecarea) relativă; $Z$ = direcția perpendiculară pe curent.

*Forța tangențială pe unitatea de suprafață (adică efortul unitar de „forfecare") este proporțională cu forfecarea relativă.* Un lichid, pentru care este valabilă ecuația lui Newton, este numit „newtonian", cum sînt apa și majoritatea lichidelor simple. Sîngele nu satisface decît cu aproximație ecuația lui Newton, de aceea este considerat lichid „nenewtonian".

Forța de viscozitate depinde de valoarea gradientului de viteză măsurat pe fiecare din cele două suprafețe de contact. Pe baza acestor raționamente, Hagen a calculat *gradientul de viteză* într-un tub a diferitelor straturi ale unui „lichid newtonian", precum și *debitul total*, prin integrarea „contribuției" la debit a fiecărui spațiu inelar concentric. Rezultatul acestui calcul îl constituie celebra *formulă Poiseuille-Hagen*, pentru debit ($D$):

$$D=(P_A-P_B)\times\left(\frac{\pi}{8}\right)\times\left(\frac{1}{\eta}\right)\times\left(\frac{R^4}{l}\right).$$

Dacă $P_A$ și $P_B$ sînt exprimate în unități C.G.S. (dyne/cm$^2$), $\eta$ în poise și dimensiunile tubului — raza ($R$) și lungimea ($l$) — în centimetri, debitul ($D$) va fi exprimat în cm$^3$/sec. Formula a fost scrisă în patru termeni, pentru ca să reiasă mai clar și să fie reținută ușor.

— este normal ca debitul să fie proporțional cu forța motrice, care este diferența dintre presiunile existente la extremitățile tubului ($P_A-P_B$);

— urmează un termen numeric ($\pi/8$), datorită implicării unui tub cilindric;

— debitul este în raport invers cu viscozitatea $\eta$, deoarece cu cît lichidul este mai vîscos, cu atît este mai greu de împins prin tub;

— ultimul termen este de natură geometrică $\left(\frac{R^4}{l}\right)$ și depinde de dimensiunile tubului. În acest caz, este normal ca lungimea să fie la numitor. Singura caracteristică ce contrazice așteptările este că raza apare la puterea a patra; ar fi fost de așteptat ca factorul implicat să fie suprafața secțiunii transversale și ca raza să fie ridicată la pătrat ($R^2$). Proporționalitatea cu puterea a patra a razei are o mare consecință fiziologică. Distribuția sîngelui în diferite părți ale corpului este reglată în special cu ajutorul musculaturii netede din pereții arteriali. Prin contracția acestor mușchi, declanșată pe cale neurohormonală, lumenul vasului se micșorează. Cînd celelalte rămîn constante (forța motrice, viscozitatea), micșorarea razei la jumătate din lungimea ei va determina descreșterea debitului la 1/16 din valoarea sa inițială. O descreștere de numai 16% a razei va reduce debitul la jumătate. În acest mod există o reglare foarte sensibilă și eficace a debitului, exercitată de către arteriole.

*Curgerea laminară și turbulența.* Pentru lichidele care curg prin tuburi rigide cu viteză foarte mare, relația dintre presiunea motrice și curgere se schimbă brusc.

O. Reynolds a arătat (în 1883) că, atunci cînd în regimul de curgere se atinge o viteză critică de curgere, aceasta din urmă se transformă din laminară în *turbulentă*. În timpul turbulenței tubul este plin cu vîrtejuri, a căror formare este ritmică.

În curgerea turbulentă, energia motrice este utilizată în mare măsură pentru a crea energia cinetică a vîrtejurilor, astfel că rezistența la curgere depinde, în cazul turbulenței, mai curînd de densitatea lichidului decît de viscozitatea lui, deoarece energia cinetică este: $\frac{1}{2}\rho V^2$, pentru unitatea de volum.

Reynolds a arătat că viteza critică la care apare turbulența depinde de viscozitatea și densitatea lichidului, ca și de raza tubului cilindric, conform relației (v. 5.3.1.):

$$V_c=\frac{Re\eta}{\rho R},$$

în care: $V_c$ este viteza critică (cm/sec), $\eta$ (viscozitatea, măsurată în poise), $\rho$ — densitatea (g/ml), iar $R$ — raza tubului (cm). $Re$ este o constantă numită *numărul lui Reynolds*, care se apropie de valoarea 1 000 pentru toate fluidele, inclusiv sîngele.

În aorta umană, care are o rază $R = 1$ cm (aria $\simeq 4$ cm$^2$), viteza sîngelui aortic depășește viteza critică numai în perioada expulzivă.

În mod normal, nu există turbulență în nici o altă porțiune a sistemului circulator, cu excepția unor zone din imediata apropiere a valvulelor cardiace, în care deschiderea și închiderea acestora produc în mod brusc viteze locale de curgere ridicate, fapt care se soldează și cu apariția zgomotelor cardiace.

*Energia cinetică a fluxului; presiunea laterală și terminală.* Un lichid în mișcare dezvoltă energie cinetică. Calculată pe unitatea de volum (ml):

$$E_c = \frac{1}{2} \times \rho \times V^2.$$

Dacă viteza ($V$) se măsoară în cm/sec, acest calcul va da energia cinetică în ergi/cm$^3$, sau în dyne/cm$^2$, astfel că energia cinetică are dimensiunile presiunii. Energia cinetică a unui lichid este energie potențială (presiune) transformată.

*Principiul lui Bernoulli* stabilește că vitezele maxime ale lichidelor sînt asociate totdeauna cu presiuni laterale minime exercitate asupra pereților. În starea de repaus, energia cinetică a fluxului sanguin prezintă o importanță deosebită în activitatea inimii numai în faza de expulzie rapidă a sistolei. Ea devine importantă atunci cînd debitul și travaliul cardiac cresc datorită eforturilor intense. Importanța energiei cinetice a sîngelui este mică în arterele de distribuție normale și cu totul neglijabilă în vasele sanguine mai mici. Totuși, energia cinetică devine extrem de importantă cînd se produce îngustarea locală a arterelor (ateroscleroză), deoarece ea tinde să determine persistența îngustării prin scăderea presiunii laterale.

*Relația dintre presiune și debit în paturile vasculare; distensibilitatea vaselor sanguine.* Legea lui Poiseuille — Hagen prevede că debitul este proporțional cu presiunea motrice. În consecință, curba care reprezintă debitul în funcție de presiunea motrice este în fond o linie dreaptă. Dacă factorul geometric este diminuat (prin micșorarea razei sau prin mărirea lungimii tubului), panta liniei drepte descrește.

Din cauza acestei liniarități, este util să se definească *rezistența la curgere* ($R$) ca raportul dintre forța motrice (presiunea) și debitul rezultant. Din *ecuația Poiseuille-Hagen* se obține:

$$R_c = \frac{P_A - P_B}{D} = \left(\frac{8}{\pi}\right) \times \eta \times \left(\frac{l}{R^4}\right).$$

Măsurîndu-se curbele debit-presiune ale fluxului sanguin, în diferite grade de constricție ale arterelor, s-a constatat că, atunci cînd constricția a fost foarte mare, debitul s-a micșorat în mod rapid, concomitent cu scăderea presiunii, pînă la zero, chiar dacă există încă o presiune motrice considerabilă. Acest punct, caracterizat prin absența curgerii, a fost numit *presiunea de flux zero*, sau *presiunea critică de închidere* (ultima expresie este utilizată deoarece în acest punct vasele mici sînt complet închise, adică rezistența este infinită).

Pentru aplicarea relației debit-presiune în cazul paturilor vasculare, s-a remarcat că nu presiunea motrice (presiunea arterială, minus presiunea venoasă) determină în cea mai mare măsură mărimea vaselor distensibile, ci mai curînd *presiunea transmurală*, adică diferența dintre presiunea intravasculară a unui vas dat și presiunea exterioară a peretelui vascular.

Deci, explicația presiunii critice de închidere trebuie găsită prin *analiza echilibrului forțelor care acționează asupra pereților vaselor sanguine distensibile.*

*Echilibrul peretelui vasului sanguin.* Analiza echilibrului forţelor care acţionează la nivelul peretelui vascular sanguin poate fi făcută prin aplicarea *legii lui Laplace*, care arată că valoarea *presiunii transmurale* (*P*) este dată de ecuaţia :

$$P = T\left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2}\right).$$

Presiunea transmurală reprezintă diferenţa dintre presiunea din interiorul unei membrane curbate la tensiunea *(T)* şi presiunea din exterior, considerînd pentru fiecare punct al membranei două raze principale de curbură ($R_1$ şi $R_2$) măsurate în centimetri.

Pentru o membrană cilindrică, ca în cazul vaselor sanguine, una din razele de curbură (situată în planul longitudinal) este egală cu zero, iar cealaltă este raza cilindrului, astfel că formula devine :

$$P = \frac{T}{R}.$$

Această formulă face posibilă calcularea tensiunii totale a pereţilor diferitelor categorii de vase atunci cînd se cunosc valorile presiunilor intravasculare şi razele vaselor determinate prin metode histologice. Tensiunea variază de la 200 000 dyne/cm (≈200 g/cm) pentru aortă, pînă la numai 14 dyne/cm (14 mg/cm) pentru capilare. Se observă că vasul capilar, avînd peretele foarte subţire, poate să reziste presiunii sanguine capilare, datorită faptului că raza sa de curbură este foarte mică. Prin trecerea de la capilare la vene, odată cu creşterea razei se măreşte şi tensiunea totală din peretele vascular, chiar dacă presiunea sanguină este redusă.

Conform legii lui Laplace, explicarea *presiunii critice de închidere* poate fi făcută astfel : pentru un anumit grad de tonus vasomotor, produs de către nervii vasomotori sau prin substanţe presoare, arteriolele din unele paturi vasculare se închid dacă presiunea lor transmurală scade sub o valoare critică.

## BIBLIOGRAFIE


Grémy, F., Leterrier, F. *Élements de biophysique*, vol. 1. Éditeur Flammarion, Médécine-Sciences, Paris, 1975.

Glasser, R. *Einführung in die Biophysik.* VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1976.

Pilawskiego, A. *Podstawy biofizyky.* Państwowy Zaklad Wydawnictw Lekarskich Warszawa, 1973.

Ruch, T. C., Fulton, J. F. *Fiziologie medicală şi biofizică.* Editura Medicală, 1963.


BCU IASI CENTRAL LIBRARY

## Anexa III

# METODE SPECTROSCOPICE UTILIZATE ÎN BIOLOGIE

În cuprinsul acestei anexe se vor prezenta metodele spectroscopice mai frecvent folosite în cercetările biofizice și biochimice. Datorită caracterului acestei lucrări, se va insista mai puțin asupra părții practice și mai mult asupra principiilor teoretice ale metodelor spectroscopice, asupra posibilităților de folosire și a limitelor de aplicabilitate ale metodelor respective.

**Generalități.** Metodele spectroscopice de studiu se bazează pe diferitele aspecte ale interacțiunii radiației electromagnetice cu materia, respectiv pe redistribuirea energiei pe diferite nivele energetice, ca o consecință a absorbției sau emisiei de radiații. După cum este știut, radiația electromagnetică poate fi descrisă numai atribuindu-i-se atît caracter de undă, cît și de particulă. Această caracterizare poate fi făcută corect numai în termenii unui tratament riguros cuantic, pe care însă, dat fiind specificul lucrării de față, îl vom evita. Este nevoie, totuși, de a reaminti cîteva reguli cu caracter cuantic, absolut necesare în abordarea oricărei metode spectroscopice, și anume :

— electronii într-un atom se pot afla numai pe anumite nivele energetice, adică există o distribuție „discretă" a spectrului energetic al unui atom sau moleculă ;

— trecerea electronilor de pe un nivel energetic pe altul are loc cu absorbția sau emiterea unei radiații a cărei frecvență $\nu$ este legată de diferența de energie $\Delta E$ dintre cele două nivele, prin relația :

$$\Delta E = h\nu,$$

unde $h = 6{,}67 \cdot 10^{-34}$ J·s (*constanta lui Planck*).

Pentru biologi, „spectroscopie" înseamnă în primul rînd observarea spectrului de absorbție, întrucît, cu mici excepții (pe care le vom menționa mai tîrziu), emisia radiației electromagnetice este apreciabilă numai la temperaturi prea înalte pentru ca integritatea moleculelor biologice să fie păstrată.

**Spectroscopia de absorbție.** Pe lîngă cele două reguli prezentate mai sus, trebuie cunoscut că starea energetică a unei molecule poate fi considerată ca o sumă de energii :

$$E = E_{elec} + E_{vib} + E_{rot},$$

unde $E_{elec}$ reprezintă energia dată de starea electronică, respectiv de ansamblul de orbitali ocupat de electronii din moleculă, $E_{vib}$ reprezintă energia de vibrație,

care se datorește variației distanței dintre nucleii atomilor componenți, iar $E_{rot}$ este energia de rotație. Ultimii doi termeni sînt mai mici decît primul și apar numai în cazul moleculelor di- și poliatomice. În figura III.1 sînt prezentate, parțial, nivelele energetice pentru o moleculă diatomică.

Acest sistem simplu ne permite să precizăm cîteva caracteristici importante ale spectroscopiei de absorbție. Între diferitele nivele electronice, de vibrație sau de rotație, pot avea loc tranziții. Variația de energie și, respectiv, frecvența radiației

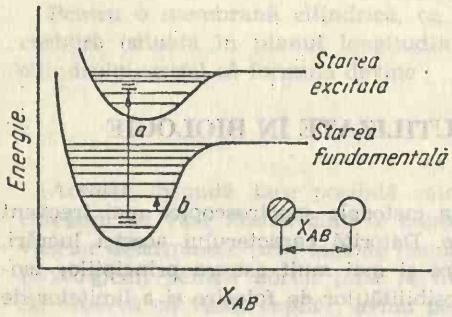



Fig. III.1. Nivelele energetice pentru o moleculă diatomică. Prin curbele groase sînt prezentate două stări electronice care diferă în energia lor potențială (ce este o funcție de distanța internucleară $X_{AB}$) și poziția minimului (distanța internucleară de echilibru). Pentru fiecare stare electronică sînt prezentate mai multe nivele de vibrație (*linii subțiri, lungi*). Pentru fiecare nivel de vibrație sînt posibile mai multe nivele de rotație dar sînt arătate numai două (prin *linii scurte*). Este prezentată o posibilă tranziție electronică (*A*) și una vibrațională (*B*).

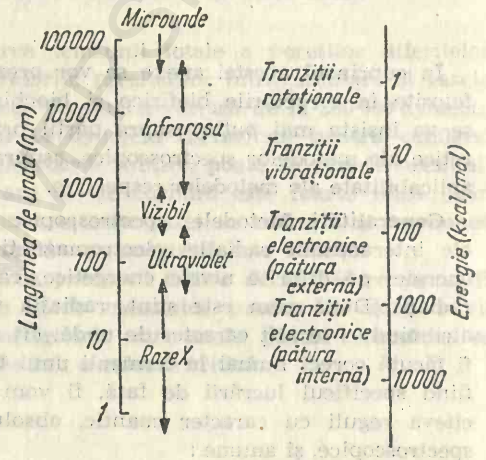



Fig. III.2. Spectrul electromagnetic și domeniul diferitelor tipuri de tranziții.

implicate în acest proces vor descrește în ordinea amintită. În figura III.2 este prezentat, schematic, spectrul electromagnetic și domeniul în care pot fi găsite diferite tipuri de tranziții.

Spectroscopia de absorbție se poate aplica cu succes nu numai în domeniul vizibilului, ci și al infraroșului și ultravioletului. În toate cazurile, studiile se fac mai ales pe soluții. Pentru soluții relativ diluate, este valabilă așa-numita *lege de absorbție Beer-Lambert* care, sub formă diferențială, se scrie :

$$-\frac{dI}{I} = b\,dx \qquad \text{(III.1)}$$

și care, prin integrare între limitele $x=0$ (zero) și $x=l$, dă :

$$I = I_0\, e^{-bl}, \qquad \text{(III.2)}$$

unde $I_0$ reprezintă radiația incidentă, $I$=radiația emergentă, $l$=grosimea stratului absorbant, $b$=așa-numitul coeficient de absorbție (natural), iar $e$=2,718... (baza logaritmilor naturali). Dacă în locul bazei $e$ se folosește baza 10, se obține :

$$I=I_0 \cdot 10^{-b'l}, \qquad \text{(III.3)}$$

unde coeficientul de absorbție (zecimal) este $b'=b/2{,}3$. Întrucît este vorba de soluții, acest coeficient se poate scrie ca produsul dintre concentrația soluției ($c$) și așa-numitul *coeficient de extincție molar* ($\varepsilon$), adică $b'=\varepsilon c$. Cu aceasta, mărimea $b'l$ poate fi scrisă :

$$b'l=\varepsilon cl=\log \frac{I_0}{I}=A \qquad \text{(III.4)}$$

și poartă numele de *absorbție* (absorbanță) sau *densitate optică*. Pe de altă parte, mărimea $\frac{I}{I_0}=T$ se numește *transmisie* și reprezintă fracțiunea transmisă a luminii incidente.

Trebuie precizat că $\varepsilon$ depinde atît de materialul traversat, cît și de lungimea de undă a radiației incidente. De aceea, pentru măsurători de absorbție se folosește lumină monocromatică de lungime de undă cunoscută. În mod practic, se măsoară scăderea intensității luminoase odată cu trecerea luminii printr-un strat de soluție de grosime cunoscută. Dacă se cunoaște concentrația, se poate afla $\varepsilon$, și invers. Asemenea măsurători pot fi făcute cu ajutorul unor aparate simple de tipul *colorimetrelor* și *fotocolorimetrelor*, sau a unor aparate mai complicate numite *spectrofotometre*. În acestea din urmă aprecierea intensității luminoase este făcută în mod electronic, prin utilizarea unor fotocelule sau fotomultiplicatoare.

În cele mai simple spectrofotometre există un singur fascicul luminos, în calea căruia sînt interpuse, pe rînd, proba de cercetat și o probă de referință, ultima constituită din apă distilată sau alte lichide (soluții) de referință. Diferența dintre absorbția probei de cercetat și a celei de referință poate fi măsurată la diferite lungimi de undă, iar reprezentarea grafică a acestor valori, în funcție de lungimea de undă ($\lambda$), de frecvență ($\nu$), sau de numărul de undă ($1/\lambda$), ne dă *spectrul de absorbție* al substanței (sau substanțelor) dizolvate. Spectrofotometrele mai evoluate dispun de două fascicule, respectiv de un dispozitiv de scindare a fasciculului inițial, astfel că atît absorbția probei de cercetat, cît și a celeia a referinței (respectiv diferența dintre ele) pot fi măsurate simultan. Un dispozitiv automat schimbă lungimile de undă cu o viteză constantă, iar spectrul de absorbție poate fi trasat direct pe un înregistrator. Schema de principiu al unui astfel de spectrofotometru este redată în figura III.3.

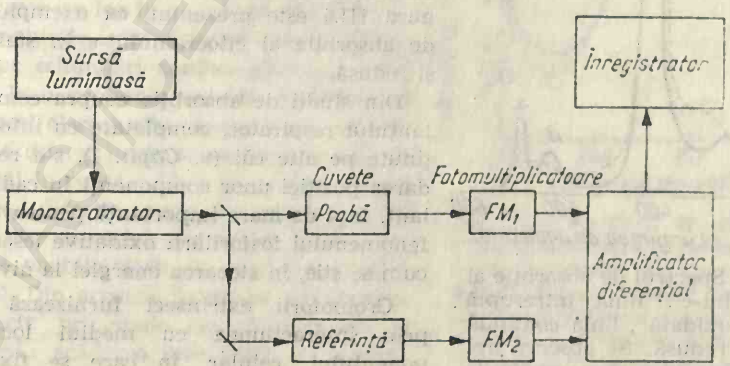



Fig. III.3. Schema unui spectrofotometru înregistrator.

Spectre în infraroșu. După cum reiese din figura III.2, spectrele din infraroșu reprezintă, în principal, tranziții vibraționale, fapt care explică complexitatea acestor spectre chiar pentru molecule relativ simple. O moleculă neliniară cu $n$ atomi va prezenta $3n$—6 moduri fundamentale de vibrație. Deci, chiar pentru un aminoacid, spectrul de vibrație va părea complicat. Pentru proteine, o analiză completă este, practic, imposibilă. Totuși, datorită faptului că anumite grupări chimice prezintă tranziții vibraționale la anumite frecvențe caracteristice, este posibil un oarecare grad de analiză. Astfel, grupul $\rangle C{=}O$ are o vibrație fundamentală în jur de 6 000 nm iar grupul $\rangle N{-}H$ în jur de 3 000 nm. Informații interesante pot rezulta și din studiul unor filme (pelicule) de macromolecule, prin folosirea radiației infraroșii polarizate. Absorbția depinde în acest caz de orientarea relativă a grupului cromofor absorbant și de direcția de polarizare a luminii. Dependența absorbției de direcția de polarizare a luminii (fenomen comun pentru lumina polarizată de orice lungime de undă) poartă numele de *dicroism circular* și este o metodă de studiu frecvent folosită în biologia moleculară.

Spectre în vizibil și ultraviolet. Tranzițiile din domeniul vizibil al spectrului sînt tranziții electronice de energie relativ joasă. Există, în principal, două tipuri de structuri biologice care prezintă absorbții în acest domeniu: *1*) compuși conținînd anumiți ioni metalici, în special metale de tranziție, așa cum este cazul metalproteinelor; *2*) sistemele de legături duble conjugate și structurile aromatice voluminoase. Benzile de absorbție electronică sînt de obicei largi, fapt care se explică prin aceea că ele sînt de fapt constituite dintr-o mulțime de subbenzi apropiate, care corespund schimbărilor în energia de vibrație ce însoțesc schimbările de stare electronică.

Pentru obținerea unor date de interes biologic, se pot folosi atît schimbările care au loc în spectrul de absorbție al unor grupări absorbante prezente în mod natural, adică așa-numiții *cromofori intrinseci*, cît și a unor substanțe adăugate din afară *(cromofori extrinseci)*. Multe măsurători biochimice, calitative și cantitative, se bazează pe diferite reacții de culoare în urma cărora un cromofor intern sau extern își schimbă spectrul de absorbție. Ca un exemplu de schimbare a spectrului de absorbție al unui cromofor intrinsec amintim schimbările de culoare a citocromilor lanțului respirator al mitocondriei sau bacteriei, în urma proceselor de oxidoreducere. În figura III.4 este prezentat, ca exemplu, spectrul de absorbție al citocromului-c în stare oxidată și redusă.

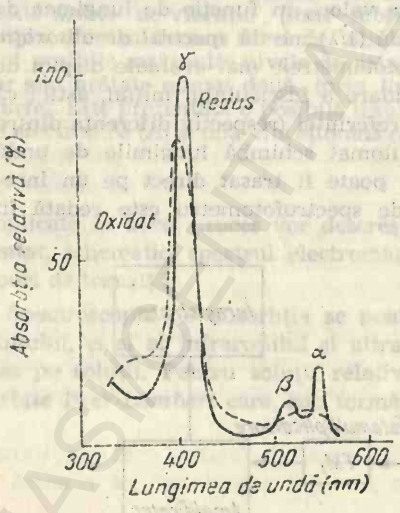



Fig. III.4. Spectrul de absorbție al citocromului-c: linia întreruptă — forma oxidată; linia continuă — forma redusă. Se observă trei benzi de absorbție, care se notează de obicei cu $\alpha$, $\beta$ și $\gamma$.

Din studii de absorbție asupra componenților lanțului respirator, completate cu informații obținute pe alte căi (v. *Capit.* 7), s-a reușit elucidarea poziției unor componenți în cadrul acestui lanț, fapt de mare importanță pentru înțelegerea fenomenului fosforilării oxidative (esențial, după cum se știe, în stocarea energiei la nivel celular).

Cromoforii extrinseci furnizează informații prin interacțiunea cu mediul local al componentului celular în care se fixează, fapt ce duce la schimbări în spectrul de absorbție

al cromoforului liber, precum și prin schimbările ulterioare ce pot avea loc prin interacțiunea cu anumiți solvenți, sau în urma schimbării mediului local, ca o consecință a unor procese biologice (reacții biochimice, schimbări conformaționale etc.). Nu vom insista asupra importanței folosirii reacțiilor de culoare a cromoforilor extrinseci în cadrul unor discipline ca biochimia, biofizica, fiziologia etc., ci vom aminti numai cîteva aplicații mai moderne ale acestei tehnici. Astfel, s-au obținut rezultate extrem de interesante în privința membranelor celulare și subcelulare, care au confirmat și adîncit cunoștințele noastre despre membrană, în special despre polaritatea acesteia. Prin studii de acest fel s-a confirmat polaritatea inversă a particulelor submitocondriale obținute prin dezintegrarea sonică a mitocondriei, în raport cu mitocondria originară, s-au putut estima potențiale de membrană în celule mult prea mici pentru a fi accesibile măsurătorilor electrice directe cu microelectrozi etc.

Trebuie precizat că atît în cadrul spectroscopiei de absorbție, cît și în cadrul altor tehnici spectroscopice sau de altă natură, acolo unde se folosesc componenți extrinseci se pune problema perturbării sistemului și, deci, a afectării informației obținute. Întrucît nu putem renunța la acest tip de informații, se impune o anumită precauție în interpretarea datelor obținute în acest fel și în selecționarea agenților folosiți.

În ceea ce privește spectrele în ultraviolet, ne vom referi aici numai la cele din ultravioletul apropiat (200—380 nm). În acest domeniu, multe substanțe de interes biologic prezintă benzi puternice de absorbție. Tranzițiile electronice care le dau naștere sînt asociate cu sisteme inelare conjugate, de dimensiuni mici. Astfel, aminoacizii aromatici sau heterociclici, ca tirozina, fenilalanina și triptofanul absorb destul de puternic în ultraviolet (UV). Absorbția proteinelor în jur de 280 nm se datorește acestor aminoacizi și, în primul rînd, triptofanului.

Schimbări importante în spectrele de absorbție UV au loc în urma apariției unor structuri de ordin secundar sau terțiar (așa cum este cazul proteinelor și acizilor nucleici), în comparație cu suma spectrelor componenților individuali. Prin denaturarea macromoleculelor de acest tip, spectrele suferă schimbări de sens invers. În general, schimbările spectrale care au loc în asemenea molecule, în condiții naturale, sînt folosite pentru detectarea unor schimbări conformaționale. Referindu-ne la o proteină, aceasta înseamnă că mediul local al resturilor aminoacidice absorbante este diferit în proteina intactă față de aminoacizii în contact liber cu soluția, sau în proteina cu diferite grade de denaturare. În cazul acizilor nucleici, asemenea efecte sînt chiar mai vizibile decît în cazul proteinelor (fig. III.5). Din această figură se pot observa două efecte principale ale polimerizării și structurării: scăderea intensității de absorb-

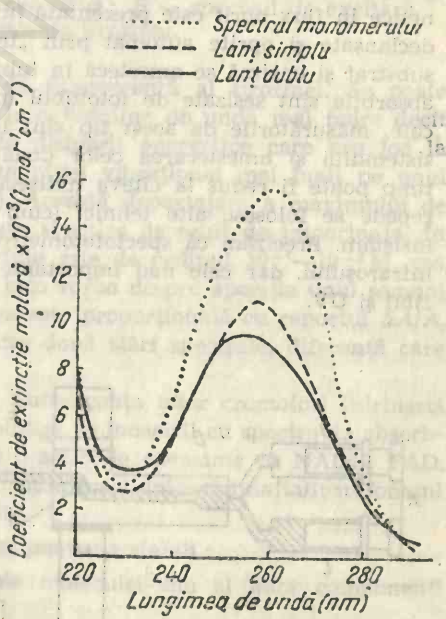



Fig. III.5. Spectrul de absorbție al acidului riboadenilic, în diferite grade de polimerizare și structurare. Se observă hipocromismul formelor polimere și deplasarea maximului de absorbție, mai ales la forma de lanț dublu al acidului poliriboadenilic.

ție (hipocromism) și deplasarea maximului de absorbție către lungimi de undă mai mici. Ambele efecte pot fi explicate pe baza configurației elicoidale a polimerilor nucleotidici. Într-o astfel de structură strîns împachetată, cromoforii nu mai pot fi considerați independenți unii de alții, ci în interacțiune. Astfel, deplasările electronice care au loc cînd una din baze absoarbe o cuantă de energie sînt simțite în bazele vecine ca o modificare a cîmpului electric. În locul unei singure frecvențe de absorbție, pe care ar manifesta-o un polimer cu $n$ grupuri independente, apare o bandă de absorbție cu $n$ nivele apropiate. Din considerente de geometrie moleculară, intensitatea de absorbție nu va fi distribuită în mod egal pe cele $n$ nivele, astfel încît este explicabilă o deplasare a maximului de absorbție. Conform unei reguli spectroscopice, absorbția totală (integrată peste toate benzile) trebuie să rămînă constantă, ceea ce înseamnă că hipocromismul care are loc la anumite lungimi de undă trebuie compensat printr-un hipercromism egal la alte lungimi de undă.

Ca și spectrele în vizibil, spectrele în UV pot fi folosite pentru evidențierea și urmărirea unor reacții biochimice, respectiv în probleme de cinetică chimică. Măsurătorile cinetice sînt făcute cu ajutorul unor spectrofotometre speciale. Amintim în acest sens spectrofotometrele cu două seturi de lungimi de undă, care pot măsura diferențial schimbările de absorbție în funcție de timp. În cazul unor reacții relativ rapide (ce se desfășoară în domeniul zecilor și sutelor de milisecunde), se folosesc tehnici speciale cum este *tehnica „fluxului oprit"*. În acest caz, se utilizează un spectrofotometru cuplat cu un aparat de flux oprit („stopped-flow apparatus") și un osciloscop cu înregistrare. Schema unui montaj pentru a face măsurători cinetice în flux oprit este prezentată în figura III.6. Sistemul de seringi *B*, *C* și *I* sînt declanșate și oprite automat prin „trigger"-ul *J*. O cantitate mică (constantă) de substrat și enzimă se amestecă în tubul central unde are loc reacția. Schimbările de absorbție sînt sesizate de fototubul instrumentului și redate pe osciloscop. Din păcate, măsurătorile de acest tip sînt limitate de timpul necesar pentru declanșarea sistemului și amestecarea celor două soluții. Pentru aparatele perfecționate, acest timp poate fi redus la cîteva milisecunde. Pentru reacții care se desfășoară și mai repede se folosesc alte tehnici (cum sînt *tehnicile de relaxare*) asupra cărora nu insistăm. Precizăm că spectofotometrele cu flux oprit pot fi folosite și în domeniul infraroșului, dar cele mai importante măsurători de acest fel sînt în domeniul vizibil și UV.

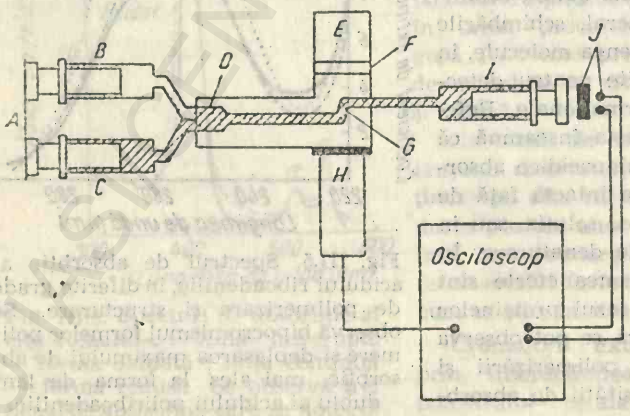



Fig. III.6. Schema unui aparat de flux oprit: *A* — barieră manuală pentru mișcarea pistoanelor seringilor; *B* — seringă cu enzimă; *C* — seringă cu substrat; *D* — cameră de amestecare; *E* — sursă de lumină; *F* — filtru sau monocromator; *G* — punct de observare în tubul de curgere; *H* — fototub; *I* — seringă pentru oprire; *J* — „trigger".

**Spectre de fluorescență.** În cadrul spectrelor de absorbție s-a prezentat numai excitarea și trecerea unei molecule din starea fundamentală pe un nivel energetic mai înalt, fără a urmări „soarta" ulterioară a acestei molecule excitate. În cele mai multe cazuri consecințele excitării sînt fără importanță, energia fiind transferată sub formă de căldură mediului ambiant. În unele cazuri însă, energia este reradiată, de obicei la o altă lungime de undă. Acest fenomen poartă numele de *fluorescență*. În figura III.7, *A* este prezentat un model simplu al acestui proces, iar în figura

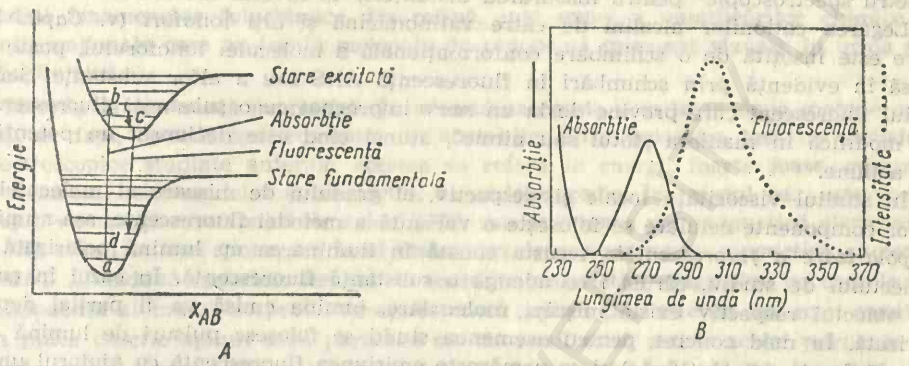



Fig. III.7. *A* — model energetic pentru explicarea fenomenului de fluorescență. Se observă o tranziție electronică ($a \rightarrow b$) și o emisie de fluorescență ($c \rightarrow d$). Săgeata ondulată reprezintă o conversie neradiativă ; *B* — spectrul de excitare și emisie pentru fluorescența tirozinei.

III.7, *B* este redat spectrul de absorbție și de fluorescență al tirozinei. Se poate observa că maximul de fluorescență are loc la o lungime de undă mai mare decît maximul de absorbție. Diferența se datorește disipării energetice care are loc la nivelul stării excitate, prin trecerea de pe un nivel vibrațional mai înalt pe unul mai jos (săgeata ondulată din figura III.7, *A*). Această departajare a maximului de fluorescență de cel de *absorbție* are consecințe practice deosebit de importante. În timp ce sensibilitatea spectroscopiei de absorbție este de ordinul $10^{-4}$—$10^{-6}$ M, cea a fluorescenței este de $10^{-9}$—$10^{-11}$ M, întrucît este vorba despre apariția unui semnal cu totul nou. (În cazul absorbției, sensibilitatea este proporțională cu raportul $\Delta A/A$, unde $\Delta A$ reprezintă diferența de absorbție între două stări spectrale, diferență care este de obicei foarte mică).

Ca și în cazul absorbției, se poate urmări fluorescența unor cromofori intrinseci sau extrinseci. Dintre cromoforii intrinseci, amintim aminoacizii cu spectre de absorbție în UV (triptofan, tirozină, fenilalanină) și o serie de coenzime ca NADH, FAD, piridoxal fosfat. Dintre cromoforii extrinseci, amintim 1-anilino-8-naftalinsulfonatul (ANS) și 2-*p*-toluidinil-6-naftalinsulfonatul (TNS).

Spectroscopia de fluorescență poate fi folosită pentru a stabili :

— gradul de polaritate al unor regiuni ale moleculei sau al unor componenți celulari ;

— distanța dintre diferite grupări ale macromoleculelor ;

— gradul de flexibilitate al unor proteine ;

— rata unor modificări conformaționale.

De exemplu, prin folosirea ANS s-a determinat că centrul activ al apomioglobinei și apohemoglobinei sînt foarte nepolare, pe cînd cele ale alcooldehidrogenazei și albuminei serice sînt moderat nepolare. ANS a fost, de asemenea, folosit ca

„reporter" al structurii suprafeței, compoziției și mobilității membranelor artificiale (model), ca indicator al fixării de ioni și al apariției unor potențiale de suprafață, precum și ca indicator al stării energetice a membranei mitocondriale și particulelor submitocondriale.

Determinarea distanței dintre diferitele grupări ale macromoleculelor se bazează pe fenomenul de transfer de energie între doi cromofori așezați la o distanță adecvată. După tipul și gradul de transfer al fluorescenței, se poate alcătui un adevărat „metru spectroscopic" pentru măsurarea distanțelor la nivelul molecular.

Legarea cationilor alcalini de către valinomicină și alți ionofori (v. *Capit.* 7), care este însoțită de o schimbare conformațională a moleculei ionoforului, poate fi pusă în evidență prin schimbări în fluorescență ANS sau a altor substanțe. Semnalul fluorescent care provine de la un nerv impregnat cu o substanță fluorescentă se modifică în maniera „totul sau nimic", atunci cînd este declanșat un potențial de acțiune.

În studiul viscozității locale și, respectiv, al gradului de mișcare al moleculelor unor componente celulare se folosește o variantă a metodei fluorescente, așa-numita *depolarizare a fluorescenței*. Aceasta constă în iluminarea cu lumină polarizată a obiectului de studiu, căruia i se adaugă o substanță fluorescentă. În cazul în care în obiectul respectiv există mișcări moleculare, lumina emisă va fi parțial depolarizată. În mod concret, pentru asemenea studii se folosesc pulsuri de lumină de durată foarte scurtă ($10^{-9}$ s) și se urmărește emisiunea fluorescentă cu ajutorul unor detectori prevăzuți cu polarizori (analizori) atît pentru lumina polarizată paralel cu pulsul incident ($I_{||}$) cît și perpendicular ($I_{\perp}$). Raportul

$$P = \frac{I_{||} - I_{\perp}}{I_{||} + I_{\perp}} \tag{III.5}$$

se numește *polarizare* și valoarea lui este legată de durata medie a stării excitate ($\tau$) și timpul de relaxare rotațional ($\rho$) prin expresia :

$$\left(\frac{1}{P} - \frac{1}{3}\right) = \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3}\right)\left(1 + \frac{3\tau}{\rho}\right), \tag{III.6}$$

unde $P_0$ reprezintă polarizarea intrinsecă (polarizarea care se observă în lipsa oricărei mișcări moleculare de rotație), iar $\rho = 3\eta V/RT$, unde $\eta$ reprezintă viscozitatea, $V$ = volumul molecular, $R$ = constanta universală a gazelor, iar $T$ este temperatura absolută. Cunoscîndu-se $V$ și estimîndu-se $P_0$, ca fiind polarizarea în proba înghețată la temperaturi foarte joase, și măsurîndu-se $P$ și $\tau$ (la temperaturi obișnuite), se poate estima $\eta$ și, respectiv, $\rho$. De exemplu, pentru vezicule de fosfatidilcolină, $\eta = 60$ cp, (centipoise), iar adăugarea de colesterol ridică treptat valoarea lui $\eta$.

**Spectre Raman.** Cînd un fascicul de lumină trece printr-un mediu, o anumită parte este absorbită, o anumită parte transmisă, iar alta difuzată (împrăștiată). Lumina poate fi studiată prin observații după o direcție perpendiculară pe lumina incidentă. Majoritatea luminii este împrăștiată fără schimbare în lungimea de undă, așa-numita *împrăștiere Rayleigh*, dar există și o cantitate mică de lumină care este împrăștiată cu schimbarea lungimii de undă. Fenomenul poate fi pus în evidență folosind lumină monocromatică în al cărei spectru se observă, după împrăștiere, anumite linii de absorbție deplasate față de lungimea de undă inițială. Fenomenul a fost observat prima dată de către Raman și Krishnan în 1928 și poartă numele de *efect Raman*. În fond, este vorba de o împrăștiere neelastică a fotonilor luminoși, o parte din energia fotonilor incidenți fiind absorbită de particulele mediului.

Deși prin folosirea luminii infraroșii se pot obține spectre Raman de rotație pură, de obicei se studiază spectrele Raman obținute în urma folosirii luminii vizibile

sau a UV. În multe cazuri, spectrele Raman obținute în felul acesta completează foarte bine spectrele de absorbție în infraroșu, întrucît vibrații sau rotații care nu sînt observabile în infraroșu pot fi active în domeniul Raman. Spectroscopia Raman furnizează astfel date foarte prețioase despre structura moleculară. Anumite schimbări fine în conformația macromoleculelor de interes biologic pot fi studiate prin această metodă. Precizăm că folosirea acestei metode a devenit practică numai în urma utilizării laserului ca sursă de lumină, altfel intensitatea luminii „împrăștiate" fiind extrem de mică. Amintim că spectroscopia Raman este folosită cu succes în studiul fenomenelor fotochimice din retină, mai exact a modificărilor chimice și conformaționale care au loc în molecula de rodopsină (pigment vizual), în urma actului iluminării.

**Metode de rezonanță magnetică.** În această categorie vom trata două metode care sînt, de fapt, metode spectroscopice de absorbție. Spre deosebire însă de metodele spectroscopice studiate anterior, acestea se referă la energii foarte joase, cuprinse în domeniul microundelor și, respectiv, al undelor radio. În primul caz, este vorba despre *rezonanța electronică de spin (RES)*, sau *rezonanța paramagnetică electronică (RPE)*, cum i se mai spune, iar în al doilea caz despre *rezonanța magnetică nucleară (RMN)*. Amîndouă metodele depind de anumite proprietăți magnetice pe care le au componenții atomului, respectiv de așa-numitul *„spin"*. Deși este un fenomen cuantic, am putea descrie spinul unei particule ca un rezultat al rotirii acelei particule în jurul axului propriu. O particulă încărcată electric și care se află în rotație se comportă ca un magnet. Ea posedă un moment de dipol magnetic, care poate avea numai anumite valori, măsurate în termenii unui așa-numit *număr cuantic de spin*. În cazul electronului, numărul de spin poate lua valorile +1/2 și —1/2. Dacă o particulă care are spinul diferit de zero este supusă unui cîmp magnetic exterior, ea va interacționa cu acest cîmp rezultînd o anumită orientare a vectorului spin în raport cu vectorul cîmp magnetic. Diferite orientări corespund unor nivele energetice diferite, între care pot avea loc tranziții, atunci cînd atomii absorb o radiație de frecvență corespunzătoare diferenței de energie dintre cele două nivele. În mod practic, se obișnuiește să se mențină frecvența constantă și să se modifice intensitatea cîmpului magnetic astfel încît să se aducă la rezonanță anumite tranziții (întrucît distanța dintre nivele depinde de cîmpul extern).

Rezonanța electronică de spin. *RES* (sau rezonanța paramagnetică electronică) se bazează pe absorbția de energie a „speciilor" (substanțelor) chimice paramagnetice aflate într-un cîmp de microunde. Substanțe paramagnetice sînt acelea care au electroni neîmperecheați sau electroni cu spin necompensat, cum se mai spune. Așa este cazul ionilor metalelor de tranziție și al radicalilor liberi. Dacă o astfel de substanță este supusă simultan acțiunii unui cîmp magnetic static și unui cîmp electromagnetic de microunde, electronii cu spin necompensat absorb energie de la cîmpul de microunde atunci cînd frecvența radiației satisface în primă aproximație relația :

$$h\nu_r = g_s \mu_B H, \qquad \text{(III.7)}$$

unde $h$ este constanta lui Planck, $\nu_r$ = frecvența de rezonanță, $g_s$ = factor de despicare spectroscopică (o mărime adimensională), $H$ = intensitatea cîmpului magnetic static, $\mu_B$ = magnetonul Bohr (unitatea de moment magnetic) = $eh/4\pi mc$, în care $m$ și $e$ sînt masa și, respectiv, sarcina electronului, iar $c$ reprezintă viteza luminii în vid. Factorul de despicare spectroscopică $g_s \cong 2$ pentru electronul liber și diferă în cazul cînd acesta interacționează cu vecinii săi.

Conform descrierii de mai sus, ar trebui să apară o singură linie de rezonanță (absorbție), dar în practică situația este întotdeauna complicată de interacțiunile magnetice ale electronului cu alți electroni și nuclee, fapt care duce la „despicarea" liniilor *(despicare fină* și *hiperfină).* Structura (despicarea) hiperfină apare ca urmare a interacțiunii momentelor magnetice ale electronilor cu spin necompensat, cu momentele magnetice ale nucleelor atomice. Din numărul și raportul intensităților componentelor hiperfine obținem informații asupra nucleelor atomice din vecinătatea electronului neîmperecheat. Alte informații importante sînt extrase din :

— intensitatea integrală de absorbție, măsurată prin aria de sub curbă („peak"), care este legată de numărul de electroni neîmperecheați din sistemul de studiat ;

— lărgimea benzii de rezonanță, măsurată la o înălțime egală cu jumătate din înălțimea maximă, care este legată de gradul de mobilitate al mediului din imediata vecinătate a electronului considerat, fiind cu atît mai îngustă cu cît mișcarea este mai accentuată.

*Metoda RES* este frecvent folosită în anumite studii de enzimologie, întrucît o serie de enzime posedă ioni paramagnetici sau pot apărea sub forma unor radicali liberi. În ambele cazuri, se pot obține informații asupra modului de legare al enzimei de substrat și al mecanismului de reacție. Radicalii liberi apar, de asemenea, în multe procese biologice (oxidoreduceri celulare, fotosinteză etc.), precum și în urma acțiunii radiațiilor penetrante.

Un capitol modern al folosirii tehnicii RES este studiul membranelor sau al altor componenți celulari. În acest caz, este nevoie de obicei de a introduce din afară o „specie" paramagnetică, un așa-numit „marker" de spin („spin label"), care să furnizeze informații prin interacțiunea sa cu mediul în care se găsește. Rolul acesta îl joacă un radical organic liber, care se poate lega covalent de anumite molecule biologice. În structura unui astfel de radical liber intră de obicei gruparea chimică nitroxid ($>N-O^{\cdot}$), după cum este prezentat în figura III.8.

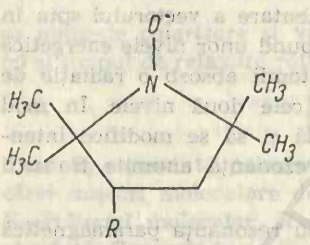


Fig. III.8. Un radical organic liber, cu gruparea nitroxid.

Prin obținerea unor acizi grași marcați în felul acesta, se poate urmări starea de mobilitate a diferitelor porțiuni ale unei molecule fosfolipidice incluse într-o membrană. Din experimente de acest fel s-a tras concluzia că interiorul membranelor este relativ mobil și mai puțin rigid decît suprafețele membranei. Mobilitatea moleculelor fosfolipidice în planul lateral al membranei poate fi, de asemenea, demonstrată prin această metodă (fig. III.9).

Rezonanța magnetică nucleară. *RMN* este o metodă asemănătoare *RES* ,dar care se bazează însă pe proprietățile unor nuclee de a poseda un spin nuclear diferit de zero și un moment magnetic asociat :

$$\vec{\mu} = g_n \beta_n \vec{I}, \qquad \text{(III.8)}$$

unde $g_n$ este un factor adimensional, analog factorului de despicare spectroscopică în cazul *RES,* iar $\beta_n$ este magnetonul nuclear [$\beta_n = eh/4\pi Mc$, unde $M$ reprezintă masa protonului, iar celelalte simboluri sînt ca în (III.7)]. Într-un cîmp magnetic, stările cu valori diferite ale lui $I$ au energii diferite. De exemplu, pentru un nucleu care are spinul 1/2, diferența de energie între cele două stări ($I = +1/2$ și $I = -1/2$) este :

$$(1/2)\, g_n \beta_n H - (-1/2)\, g_n \beta_n H = g_n \beta_n H. \qquad \text{(III.9)}$$

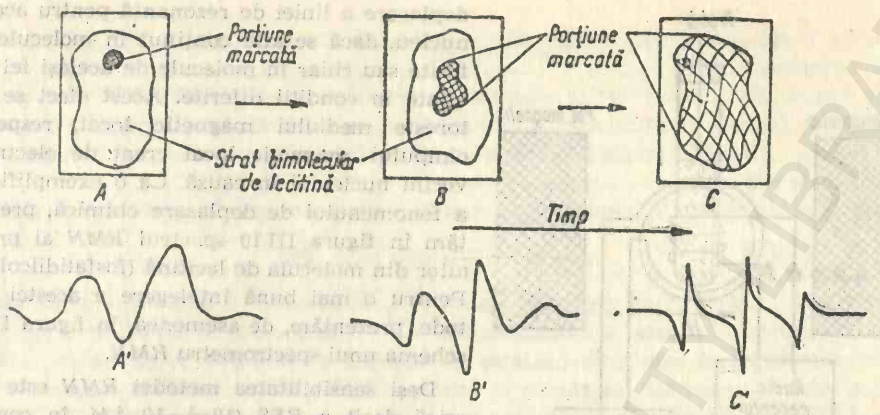



Fig. III.9. Mobilitatea moleculelor fosfolipidice în planul lateral al membranei, urmărită prin schimbarea în timp a spectrului RES. Pata de lecitină (fosfatidilcolină), marcată cu un „marker" de spin (*A*), difuzează treptat în toată membrana (*B* și *C*). Fenomenul poate fi urmărit prin schimbarea spectrului RES (*A'*→*B'*→*C'*).

Între cele două stări pot fi induse tranziții de către o radiație electromagnetică (din domeniul radiofrecvențelor), de frecvență $\nu_r$, astfel ca să fie satisfăcută condiția de rezonanță :

$$h\nu_r = g_n \beta_n H. \qquad \text{(III.10)}$$

Dintre parametrii spectrelor *RMN*, în afară de $g_n$ care este caracteristic fiecărui nucleu, mai amintim :

— *intensitatea semnalului*, proporțională cu numărul de nuclee ce intră în rezonanță ;

— *lărgimea liniei*, care depinde de interacțiunea cu mediul ;

— *deplasarea chimică*, ce furnizează informații asupra vecinătății electronice a nucleului studiat.

*RMN* poate fi folosit atît în studiul structurii moleculelor, cît și al gradului de mobilitate al unor molecule incluse în anumite structuri. Aceste informații rezultă din măsurarea primilor doi parametri amintiți mai sus. De foarte mare importanță este însă și cel de-al treilea parametru — deplasarea chimică — ce reprezintă o

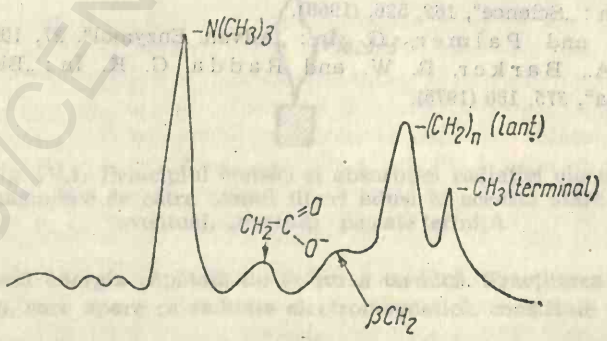



Fig. III.10. Spectrul RMN al protonilor din molecula de fosfatidilcolină ; ilustrarea fenomenului de deplasare chimică.

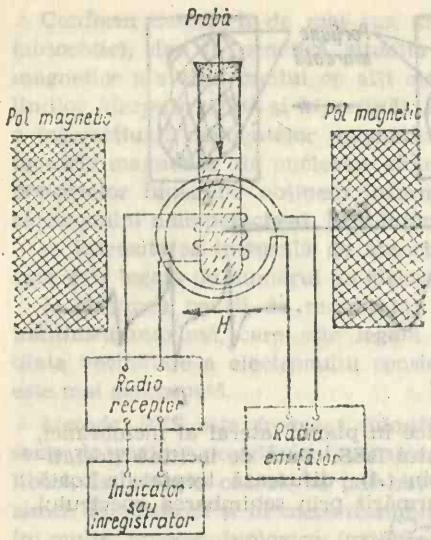



Fig. III.11. Schema unui spectrometru RMN.

deplasare a liniei de rezonanță pentru același nucleu, dacă se află conținut în molecule diferite sau chiar în molecule de același fel dar aflate în condiții diferite. Acest efect se datorește mediului magnetic local, respectiv cîmpului magnetic local creat de electronii vecini nucleului în cauză. Ca o exemplificare a fenomenului de deplasare chimică, prezentăm în figura III.10 spectrul *RMN* al protonilor din molecula de lecitină (fosfatidilcolină). Pentru o mai bună înțelegere a acestei metode, prezentăm, de asemenea, în figura III.11 schema unui spectrometru *RMN*.

Deși sensibilitatea metodei *RMN* este mai mică decît a *RES* ($10^{-3}$—$10^{-4}$ *M*, în comparație cu $10^{-7}$—$10^{-8}$ *M*), ea prezintă anumite avantaje. În primul rînd, datorită multitudinii de nuclee cu spin diferit de zero, metoda poate fi foarte larg folosită, fără a fi nevoie de introducerea unui „marker". Chiar și atunci cînd, pentru o rezoluție mai bună, se apelează la acest lucru, este vorba numai de substituirea a două nuclee apropiate (de exemplu, înlocuirea hidrogenului $^1H$ cu deuteriu $^2H$).

Ambele metode de rezonanță constituie tehnici foarte eficace de pătrundere în intimitatea structurilor moleculare și subcelulare.

## BIBLIOGRAFIE

Van Holde, K. E. *Physical Biochemistry.* Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1971.

Bernhard, S. A. *The Structure and Function of Enzymes.* W. A. Benjamin Inc., Reading, Massachusetts, 1968.

Stryer, L. În: „Science", *162*, 526, (1968).

Beinert, H. and Palmer, G. În: „Advan. Enzymol". *27*, 105 (1965).

Berden, J. A., Barker, R. W. and Radda, G. K. În: „Biochim., Biophys. Acta", *375*, 186 (1975).

## Anexa IV

# SPECTROSCOPIA DE ABSORBȚIE ATOMICĂ

Această metodă reprezintă o modalitate de dozare calitativă și cantitativă a metalelor, mult mai precisă decît toate tehnicile de emisie folosite pînă acum (flamfotometrie, fluorescență de raze X și chiar activare cu neutroni). În prezent, există instrumente care permit măsurători atît în emisie, cît și în absorbție. În ambele cazuri determinările sînt relative, adică bazate pe comparația cu valori standard pentru eșantioane de compoziție și concentrație cunoscută.

Principiul de bază al emisiei și absorbției atomice poate fi ușor înțeles cu ajutorul schiței din figura IV.1, care include un „nor" de atomi liberi. Dacă se aplică energie acestui nor sub formă de căldură (sau alte forme de energie), o parte din atomi vor fi „excitați" la nivele energetice mai înalte. Cînd atomii revin pe nivelul funda-

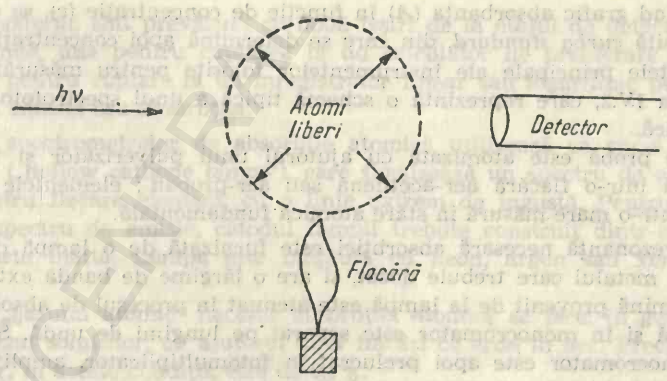



Fig. IV.1. Principiul emisiei și absorbției radiației electromagnetice de către atomii liberi aduși în această stare și, eventual, „excitați" pe cale termică.

mental, eliberează energia căpătată de la sursa termică. Fracțiunea din energia eliberată de atomi, care apare ca radiație electromagnetică, constituie *spectrul de emisie al atomului.*

În „absorbția atomică" are loc procesul invers : atomii din probă nu sînt excitați prin încălzire ci numai disociați din legăturile lor chimice și aduși într-o stare fundamentală neionizată. În acest mod, ei sînt capabili să absoarbă lumină a cărei lun-

gime de undă corespunde tranziției din starea de energie minimă pe un nivel energetic superior.

În figura IV.1 fotonii excită atomul, iar absorbția caracteristică este recepționată de cealaltă parte a norului atomic, înregistrîndu-se *spectrul de absorbție al atomului.*

Aducerea probei în stare de „gaz atomic" se face prin încălzire la o temperatură suficient de ridicată.

Numărul de atomi $N_j$ care sînt excitați la o stare energetică $j$ este dat de relația :

$$N_j = N_0 (F_j / P_0) \exp (-E_j / kT),$$

unde $N_0$ este numărul de atomi în starea fundamentală ; $P_j$ și $P_0$=ponderile statistice ale stărilor excitată și fundamentală și $T$=temperatura absolută a gazului. (Ponderea statistică este probabilitatea de apariție a tranziției în starea respectivă).

Toți atomii neexcitați se găsesc în starea fundamentală, astfel că marea majoritate a atomilor se află în starea fundamentală la temperaturi de 2 000 °K, 3 000 °K și chiar 4 000 °K. Întrucît variația de temperatură produce o variație exponențială a numărului de atomi ce pot emite, fapt ce are un efect nesemnificativ asupra numărului de atomi ce pot absorbi, rezultă că metodele de emisie sînt foarte sensibile la schimbările de temperatură, în timp ce metodele de absorbție sînt relativ insensibile la astfel de schimbări.

Legile cantitative care guvernează spectroscopia de absorbție atomică sînt aceleași care se aplică și la spectroscopia de absorbție, adică *legile lui Lambert și Beer.*

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I} = E \cdot c \cdot l,$$

unde $A$ este absorbanța ; $I_0$=intensitatea radiației incidente ; $I$=intensitatea radiației transmise ; $E$=coeficient de extincție pe unitatea de concentrație ; $c$=concentrația ; $l$=mărimea drumului de absorbție.

Reprezentînd grafic absorbanța ($A$) în funcție de concentrație (c), se obține o linie dreaptă, numită *curba standard,* din care se determină apoi concentrația probei.

Componentele principale ale instrumentelor folosite pentru măsurători sînt arătate în figura IV.2, care reprezintă o schemă tipică a unui spectrofotometru de absorbție atomică.

Soluția de probă este atomizată cu ajutorul unui pulverizator și vaporii astfel produși intră într-o flacără aer-acetilenă sau aer-propan ; elementele conținute în soluție trec într-o mare măsură în stare atomică fundamentală.

Raza de rezonanță necesară absorbției este furnizată de o lampă cu catod confecționat din metalul care trebuie dozat, și are o lărgime de bandă extrem de mică. Fluxul de lumină provenit de la lampă este atenuat în procesul de absorbție care are loc în flacără și în monocromator este separat pe lungimi de undă. Semnalul care iese din monocromator este apoi prelucrat în fotomultiplicator, amplificat și afișat pe instrumentul de măsură. Pentru a distinge lumina care apare în lampă de cea de aceeași lungime de undă din flacără, intensitatea lămpii este modulată fie cu un modulator mecanic („chopper"), fie prin alimentarea ei de la o sursă de curent alternativ.

La majoritatea aparatelor moderne, instrumentul de măsură utilizează două scale : una gradată de la 0%—100% unități de transmitanță și alta gradată de la 0 la 2 unități de absorbanță. Prima scală se folosește pentru măsurători în emisie, iar a doua pentru măsurători în absorbție. În primul caz este vorba de o scală relativă, deoarece instrumentul va indica 0% cînd martorul este aspirat în flacără și 100% cînd se va aspira o soluție cu concentrație foarte mare a elementului ce trebuie do-

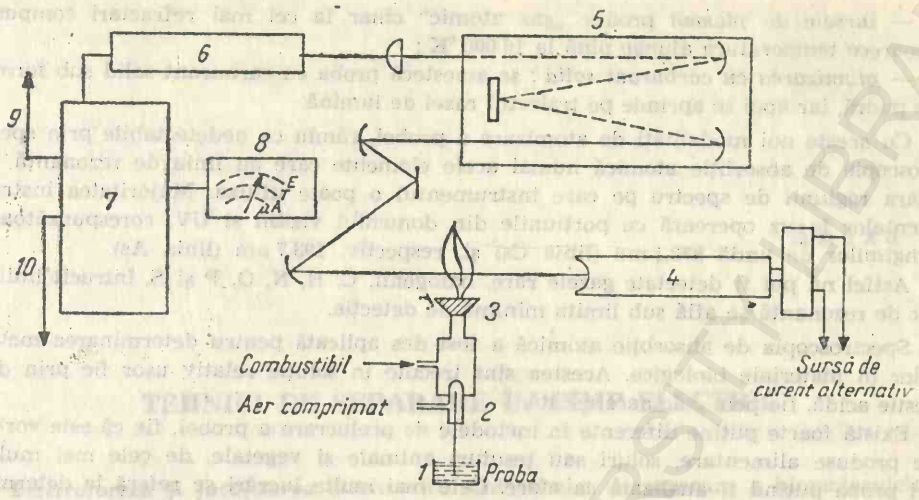



Fig. IV.2. Schema-bloc a unui spectrofotometru de absorbție atomică :
*1* — suportul probei; *2* — pulverizatorul; *3* — arzătorul; *4* — lampa cu catod perforat; *5* — monocromator; *6* — fotomultiplicator; *7* — amplificator; *8* — instrumentul de măsură; *9* — ieșirea pentru cuplarea unui calculator de prelucrare a datelor; *10* — ieșirea pentru cuplarea unui înregistrator. (Pentru detalii, vezi textul).

zat, astfel încît probele propriu-zise să aibă concentrații mai mici decît limita maximă aleasă arbitrar. În al doilea caz, adică la măsurători de absorbție, se potrivește valoarea zero pentru proba martor care nu conține elementul de dozat, după care se poate determina proba. Dacă concentrația probei este mai mare decît valoarea maximă admisă de mărimea scalei, proba se poate dilua într-o proporție cunoscută.

Aparatele moderne sînt prevăzute cu două ieșiri de la etajul de detectare al semnalului, și anume, una pentru cuplarea la un calculator de prelucrare automată a datelor și alta pentru cuplare la un înregistrator linear sau logaritmic pentru urmărirea în timp a emisiei sau absorbției.

Majoritatea spectrometrelor de absorbție atomică utilizează ca sursă lămpile cu catod perforat („hollow cathode lamps"), care furnizează un spectru de emisie foarte strălucitor pentru fiecare element, cu o linie extrem de îngustă. Pentru a nu contamina acest spectru de emisie, catodul lămpii trebuie construit dintr-un metal cu o puritate foarte înaltă. Lampa este umplută cu neon, argon sau xenon la presiune joasă.

Producerea „gazului atomic" necesar absorbției atomice se face, în general, și cel mai bine în cazul soluțiilor, cu ajutorul unei flăcări ce arde în aer. Precizia relativă a măsurătorilor, în aceste condiții, este de 0,2%.

Deși folosirea flăcării prezintă nenumărate avantaje, are și unele dezavantaje, deoarece produce reziduuri de interferență și nu se pretează decît la soluții, în timp ce multe probe naturale se prezintă ca solide. De aceea, în afară de flacără, există (și sînt folosite) mai multe moduri de a converti proba în atomi.

Iată cîteva dintre ele :

— *cuptorul lui Lvov* produce arc electric între doi electrozi, din care unul conține proba în stare solidă ;

— *tehnica laser* constă din iradierea cu o rază de la un laser de mare putere, care provoacă volatilizarea unei porțiuni de solid ;

— *sursele de plasmă* produc „gaz atomic" chiar la cei mai refractari compuși, deoarece temperatura ajunge pînă la 16 000 °K ;

— *atomizarea cu carburant solid :* se amestecă proba cu carburant solid sub formă de pudră, iar apoi se aprinde pe traiectul razei de lumină.

Cu aceste noi modalități de atomizare a probei, rămîn ca nedetectabile prin spectroscopie de absorbție atomică numai acele elemente care au linia de rezonanță în afara regiunii de spectru pe care instrumentul o poate utiliza. Majoritatea instrumentelor în uz operează cu porțiunile din domeniul vizibil și UV, corespunzătoare lungimilor de undă 852,1 nm (linia Cs) și, respectiv, 193,7 nm (linia As).

Astfel nu pot fi detectate gazele rare, halogenii, C, H, N, O, P și S, întrucît liniile lor de rezonanță se află sub limita minimă de detecție.

Spectroscopia de absorbție atomică a fost des aplicată pentru determinarea metalelor în materiale biologice. Acestea sînt trecute în soluție relativ ușor fie prin digestie acidă, fie prin calcinare uscată.

Există foarte puține diferențe în metodele de prelucrare a probei, fie că este vorba de produse alimentare, soluri sau țesuturi animale și vegetale, de cele mai multe ori proba putînd fi analizată ca atare. Cele mai multe lucrări se referă la determinarea diferitelor elemente în sînge și urină, metoda fiind larg răspîndită în majoritatea laboratoarelor clinice. Este vorba de determinarea atît a elementelor esențiale pentru organism, cum ar fi Ca, Mg, Na, K, Fe, cît și a celor mai puțin obișnuite și care intervin în diferite boli sau intoxicări : Pb, Zn, Cu, Cr, Ta, Cd, Hg, Li, Ni, Co, Mn, Sr, As, Se, Te, Bi. Probele de ser, plasmă sau urină se diluează astfel ca să rămînă în limitele de detecție ale aparatului. Mulți autori au procedat la precipitarea proteinelor sau tratarea probei cu solvenți organici, pentru a nu înfunda arzătorul.

Pentru determinarea metalelor din țesuturi, majoritatea autorilor utilizează calcinarea uscată a materialului biologic și apoi dizolvarea „cenușei" rezultate în apă deionizată.

În acest mod s-au determinat, calitativ și cantitativ, cu precizie foarte bună : *a*) Na, K, Zn, Ca, Mg din mușchi ; *b*). Ca, Mg din spută și lichidul cerebrospinal ; *c*) Ca, Mg, Cr din dietă și excremente ; *d*) Se din retină.

Pentru analiza țesuturilor vegetale proba este prelucrată fie chimic, fie prin calcinare uscată într-un cuptor. Cenușa se dizolvă apoi în apă deionizată și se determină direct.

Spectroscopia de absorbție atomică se aplică, de asemenea, în studiul conținutului diferitelor metale în soluri și ape. Solurile necesită o prelucrare prealabilă, în sensul că metalul care trebuie determinat se extrage din sol cu diferite soluții : clorură de amoniu pentru Ca, Mg, Na și K ; $HNO_3$ sau $HClO_4$ pentru Zn, Cu, Mn, Fe etc. Apele din lacuri, rîuri sau reziduale pot fi analizate direct.

Dintre numeroasele aplicații ale spectroscopiei de absorbție atomică mai menționăm studiul competiției pentru locurile de legare intracelulară a Na, K, Zn, Ca, Mg.

**BIBLIOGRAFIE**

Slavin, W. *Atomic Absorption Spectroscopy.* Interscience Publishers, 1968.
Willis, J. B. *Methods of Biochemical Analysis,* vol. XI. Interscience Publishers, 1963.

## Anexa V

# TEHNICI DE SEPARARE ÎN CÎMP ELECTRIC

*Electroforeza* și *focalizarea izoelectrică* sînt tehnici de separare a biomoleculelor, fragmentelor de celule și chiar a celulelor din amestecuri, pe baza încărcării lor electrice.

**Electroforeza.** Este fenomenul de deplasare a particulei încărcate (material dizolvat, suspendat) față de lichidul staționar, sub influența cîmpului electric aplicat.

În principiu, electroforeza permite :

— urmărirea deplasării unor particule încărcate electric, sub influența cîmpului electric ;

— determinarea vitezei de deplasare ;

— determinarea mobilității de deplasare, adică a vitezei într-un cîmp de mărime egală cu unitatea ;

— separarea componentelor dintr-un amestec, pe baza mobilităților diferite.

Tehnicile de electroforeză urmăresc cel mai adesea determinarea unuia sau a cîtorva dintre acești parametrii.

Principiul electroforezei este cunoscut de cîteva decenii [1].

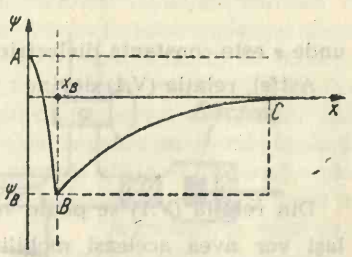



Fig. V.1. Variația cu distanța a potențialului unui perete încărcat în contact cu o soluție electrolitică :
$x_B \sim 10^{-9}$ m ; $\psi_B = \xi$ (potențial zeta).

Periferia unei particule coloidale sau a unei macromolecule (macroion) se poate considera drept un perete încărcat. Fie acest perete încărcat pozitiv (fig. V.1). În contact cu o soluție electrolitică, peretele încărcat pozitiv va atrage ionii de semn opus și, dimpotrivă, va respinge ionii de același semn. Astfel, în vecinătatea peretelui se formează un dublu strat electric ; agitația termică opunîndu-se unei ordonări perfecte, dublul strat va fi difuz. Concentrația mare de ioni negativi într-o pătură apropiată de perete (la aprox. $10^{-9}$ m) va face ca potențialul să scadă brusc de la valoarea sa inițială $A$ la o valoare $B$, revenind apoi progresiv odată cu creșterea distanței ($x$) față de perete, concentrația ionilor negativi descrescînd pe măsură

[1] A. Tiselius, Trans. Faraday Soc., 1937, vol. 33, *p.* 524.

ce scade influența peretelui. Dublul strat electric poate fi considerat ca fiind legat rigid de perete ; el este o caracteristică a peretelui. Diferența de potențial (*BC*), dintre potențialul stratului extern și potențialul la distanță mare de perete, se numește *potențial electrocinetic* (sau zeta — ξ). Forma potențialului electrocinetic a fost calculată nu numai pentru perete infinit (*teoria Stern, teoria Debye-Hückel*), dar și pentru particule sferice etc. Cunoașterea formei potențialului electrocinetic permite calcularea mobilității electroforetice.

În cazul unei particule sferice, suficient de mici pentru a fi tratată ca punctiformă, particula se deplasează spre perete învingînd forța de frecare datorată mediului de viscozitate $\eta$. Egalînd forța electrică ($F=Q\cdot E$, în care $Q$ este sarcina netă a particulei, iar $E$ valoarea cîmpului electric) cu cea de frecare, exprimată prin *relația lui Stockes* pentru formele sferice :

$$QE=6\,\pi\eta\, av,$$

unde $a$ este raza particulei, $v$=viteza electroforetică, se obține :

$$\frac{v}{E}=\frac{Q}{6\pi\eta a}\cdot$$

Deci mobilitatea electroforetică, definită prin $u=\frac{v}{E}$, în cazul unei particule sferice punctiforme ce migrează sub acțiunea cîmpului electric, printr-un lichid staționar, este exprimată prin :

$$u=\frac{v}{E}=\frac{Q}{6\pi\eta a}\cdot \qquad (V.1)$$

Pentru o particulă sferică potențialul zeta este :

$$\xi=\frac{Q}{\varepsilon\cdot a},$$

unde $\varepsilon$ este constanta dielectrică a mediului.

Astfel, relația (V.1) devine :

$$U=\frac{\xi\varepsilon a}{6\pi\eta a}=\frac{\xi\varepsilon}{6\pi\eta}\cdot \qquad (V.2)$$

Din relația (V.1) se poate vedea că particulele pentru care raportul $\frac{Q}{a}$ va fi același vor avea aceleași mobilități electroforetice. Sarcina netă este, însă, produsul dintre suprafață și densitatea de sarcină superficială ($\sigma$). Spre exemplu, în cazul unei particule sferice, $Q=4\,\pi a^2\,\sigma$, deci :

$$\frac{Q}{a}=\frac{4\pi a^2\sigma}{a}=4\,\pi a\,\sigma.$$

Dacă variațiile razei ($a$) sînt compensate de variațiile densității de sarcină superficială ($\sigma$), particulele vor avea aceleași mobilități electroforetice.

Din relația (V.2) se poate vedea că particulele cu potențial electrocinetic egal vor avea aceleași mobilități electroforetice, independent de raza lor.

Sarcina superficială, respectiv dublul strat electric și mobilitățile electroforetice pot fi influențate de eventualele reacții electrochimice, de *p*H-ul și tăria ionică a soluției.

Separările electroforetice se efectuează fie în soluție, fie pe suport solid ; scopul în care se efectuează separările poate fi *analitic* (la scară mică) sau *preparativ* (la scară relativ mare). În funcție de scop, de natura suportului și de natura substanțelor de separat s-au perfecționat numeroase tehnici de electroforeză, dintre care cele mai cunoscute sînt :

— microelectroforeza ;

— electroforeza Tiselius ;

— electroforeză pe suport solid (hîrtie, diferite geluri, membrane, diferite straturi subțiri) ;

— imunoelectroforeza ;

— radioelectroforeza.

*Microelectroforeza.* Dacă materialul de investigat este sub formă de suspensie diluată și conține particule vizibile la microscop, comportamentul electroforetic se poate observa și măsura direct. Această tehnică nu presupune cunoașterea potențialelor zeta ; determinările se fac comparativ cu substanțe cunoscute.

Microelectroforeza se efectuează cu o instalație experimentală care, prin folosirea unor celule adecvate, permite observarea directă, la microscop, a materialului de studiat (fig. V.2).

Celulele de lucru trebuie să permită o iluminare ușoară, o termostare eficientă spre a înlătura efectul termic Joule și să nu introducă, pe cît posibil, distorsiuni optice.

Avantajele microelectroforezei față de electroforeza convențională sînt :

— permite observarea directă a formei, dimensiunii, orientării particulelor. Într-o suspensie polidispersă se pot face, selectiv, măsurători pe diferite tipuri de particule, se poate urmări, selectiv, cinetica migrării ;

— se măsoară direct mobilitățile ;

— se poate utiliza un domeniu larg de concentrații de electrolit ;

— nu se schimbă mediul de migrare a particulei pe perioada determinărilor, nu se pun probleme de eluție.

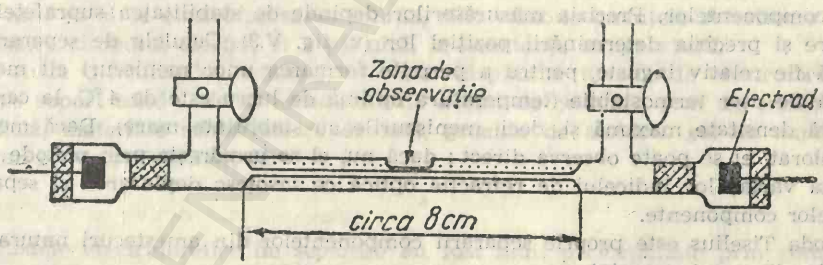



Fig. V.2. Celulă cilindrică de microelectroforeză (după D. J. Shaw, 1969).

Dezavantajele microelectroforezei sînt :

— particulele cu indice de refracție similar cu acela al mediului nu se văd sau se văd greu, fiind necesare tehnici speciale de colorare.

— nu se pot studia suspensii concentrate ; de preferință, se studiază suspensii foarte diluate în care interacțiunile dintre particule sînt neglijabile.

Microelectroforeza a permis cuantificarea dependenței mobilității în funcție de *p*H la tărie ionică constantă, a mobilității în funcție de concentrația de electrolit, a efectului tratamentului unor reactivi chimici (în special enzime) asupra mobilității, precum și determinarea constantelor de disociere pe diverse sisteme experimentale.

Microelectroforeza s-a dovedit a fi utilă în studiul suprafeţelor unor celule (în special eritrocite şi microorganisme ca bacterii, viruşi), în legătură cu probleme de ontogeneză, patologie şi în alte probleme de interes biologic şi medical.

*Metoda Tiselius.* Prin metoda Tiselius se urmăreşte deplasarea în cîmp electric a suprafeţei de separare dintre o soluţie şi un mediu pur de dispersie, suprafaţă formată prin diferenţe de densitate. Metoda permite urmărirea unor cantităţi microscopice de material; nu permite urmărirea individuală a particulelor.

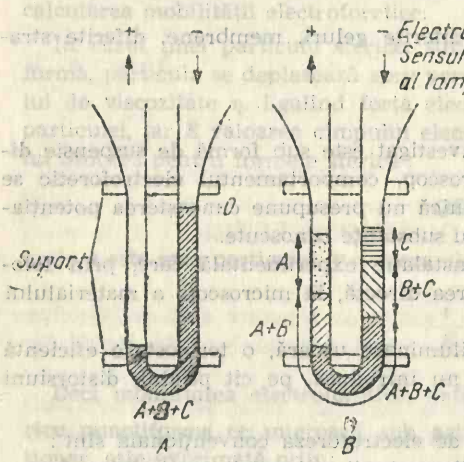



Fig. V.3. Schema aparatului Tiselius pentru electroforeză; separare dintr-un amestec de trei componente.

Aparatul Tiselius se compune din celule de formă particulară (fig. V.3) în care tamponul şi soluţia de macromolecule formează o suprafaţă de separare (menisc) ce se pune în evidenţă prin metode optice. Aplicînd un cîmp electric, se urmăreşte deplasarea meniscului, corespunzător fiecărui component din amestecul iniţial. Ţinînd cont de poziţia iniţială a meniscului, distanţa străbătută de cîte un component, valoarea cîmpului electric, durata separării etc. se pot calcula mobilităţile electroforetice pentru fiecare component. Mobilitatea electroforetică, în cazul metodei Tiselius, este definită ca distanţa parcursă de particula de studiat într-un cîmp electric de mărime egală cu unitatea. Metoda Tiselius permite, deci, *separarea* şi *identificarea* componentelor. Precizia măsurătorilor depinde de stabilitatea suprafeţelor de separare şi precizia determinării poziţiei lor (v. fig. V.3). Celulele de separare trebuie să fie relativ înguste, pentru a permite formarea unor meniscuri cît mai stabile, să fie uşor termostabile (temperatura optimă de lucru este de 4 °C, la care apa prezintă densitate maximă şi, deci, meniscurile au stabilitate mare). Dacă meniscul este colorat, el se poate observa direct; dacă nu, el se urmăreşte prin metode optice pe baza variaţiilor indicelui de refracţie optică ce însoţesc deplasarea şi separarea diferitelor componente.

Metoda Tiselius este proprie separării componentelor din amestecuri naturale (de exemplu, din serul sanguin).

În general, se consideră metoda Tiselius ca fiind foarte bună pentru separări de proteine.

*Electroforeza pe suport solid.* Principiul electroforezei pe suport solid este acelaşi ca al electroforezei în soluţie, dar mobilităţile ce se obţin vor fi în funcţie şi de calităţile suportului. În general, dacă se aplică o diferenţă de potenţial între extremităţile unui suport solid (bandă de hîrtie, gel etc.) impregnat cu un tampon adecvat, componentele dintr-o picătură de probă aplicată pe acest suport se vor deplasa, sub acţiunea cîmpului electric, cu o viteză determinată, printre altele, de sarcina netă per moleculă şi de suport. Prezenţa suportului introduce o serie de dificultăţi de ordin principial şi tehnic. Suportul face ca migrarea să fie un proces complicat, în care sînt implicate curgerea prin capilarele suportului şi procesele de ad-

sorbție, suportul jucînd și rolul unei „site moleculare". Migrarea fiind un proces complex, nu este posibilă determinarea mobilităților electroforetice propriu-zise.

Eluarea (recuperarea componentelor separate de pe suport) ridică și ea numeroase probleme : ea trebuie să se facă lent, pentru a permite recuperarea componentelor într-un volum cît mai mic (cît mai puțin diluate).

Pentru evaluarea cantitativă a componentelor separate se poate proceda la colorarea acestora cu ajutorul unei soluții adecvate, numită *revelator*. Estimarea propriu-zisă se face optic fie prin aprecierea directă pe suport, fie după eluție. Fotometria directă are avantajul că permite evaluarea exactă a pozițiilor componentelor separate, ceea ce crește considerabil precizia măsurătorii. Evaluarea spectrofotometrică directă se face cu aparate special construite pentru acest scop, care permit trecerea benzii electroforetice cu o viteză determinată (lentă) în fața unei fante, printr-un fascicul luminos. Lungimea de undă a radiației exploratoare se alege în funcție de natura substanțelor separate și de coloranții revelatori. Fasciculul de lumină, după ce a traversat banda electroforetică, cade pe o fotocelulă. Astfel se înregistrează direct variațiile densităților optice în funcție de poziția de pe bandă, respectiv se înregistrează variația concentrației proteice în funcție de poziția pe bandă (fig. V.4).

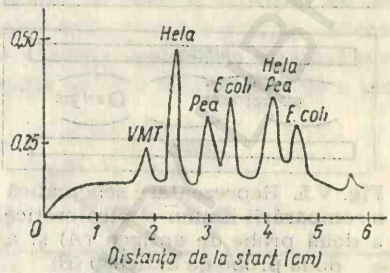



Fig. V.4. Diagrama electroforetică a unui amestec de ARN-uri de la diverse specii (*VMT* — virusul mozaicului tutunului, *HeLa, Escherichia coli, Pea*). Prin electroforeză se evidențiază heterogenitatea amestecului (după H. R. Maurer, 1971).

Separările pe suport solid au avantajul că necesită cantități mici de probă, permit separări de bună calitate, se vizualizează și se identifică relativ ușor componenții separați. Metodele acestea se utilizează mai mult în scopuri analitice, separările la scară preparativă ridicînd numeroase dificultăți de ordin practic.

Și aici, ca și la electroforeza în soluție, sînt valabile cerințele referitoare la uniformitatea cîmpului electric și a *p*H-ului, la constanța temperaturii.

În ciuda dificultăților tehnice, cele mai răspîndite tehnici de electroforeză sînt cele pe suport solid : hîrtie, membrane de acetat de celuloză, praf de celuloză, praf de sticlă, materiale schimbătoare de ioni, granule de amidon, gel de amidon, gel de agar, gel de poliacrilamidă.

*

Metodele electroforetice de separare au fost mult perfecționate prin combinarea lor cu alte tehnici ca imunodifuzia (imunoelectroforeza) sau folosirea de substanțe marcate radioactiv (radioelectroforeză).

*Imunoelectroforeza*, care folosește înalta selectivitate a reacțiilor antigen-anticorp pentru a crește capacitatea de rezoluție a electroforezei convenționale, este una din metodele de separare de vîrf la ora actuală. Imunoelectroforeza permite diferențierea între proteine cu mobilități electroforetice, activități enzimatice, colorabilitate similară, precum și diferențierea între componente antigenice similare din punct de vedere imunochimic, dar cu mobilități electroforetice diferite.

Imunoelectroforeza se efectuează în general pe gel de agar ; se aplică o picătură de probă cu antigeni într-un godeu și se aplică cîmpul electric ; apoi se plasează proba cu anticorpi la aproximativ 0,5—1 cm de godeul cu antigeni și se lasă ca, prin difuzie simplă, fronturile de antigen și anticorp să se întîlnească.

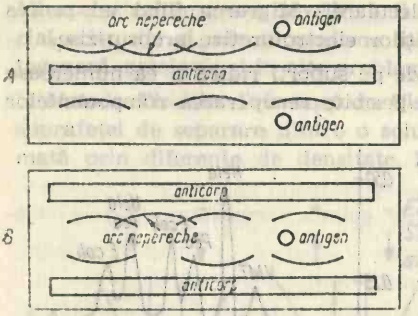



Fig. V.5. Reprezentare schematică a comparării imuno-electroforetice a două probe de antigen (*A*) și a două probe de anticorp (*B*) (după D. J. Shaw, 1969).

Fronturile de precipitare au forma unor arcuri eliptice. Localizarea arcurilor depinde de localizarea antigenilor în urma electroforezei, precum și de constantele de difuzie ale antigenilor și anticorpilor. Arcurile de precipitare pot fi vizualizate și fotografiate direct. Prin imunoelectroforeză se pot compara amestecuri de antigeni (fig. V.5, *A*) sau amestecuri de anticorpi (fig. V.5, *B*). În ambele cazuri se produce un set de perechi de arcuri ; arcurile nepereche indicînd prezența unor antigeni (fig. V.5, *A*) sau a unor anticorpi (fig. V.5, *B*) necomplementari într-una din probe.

O altă metodă de studiu a interacțiilor moleculare este *electroforeza încrucișată :* se aranjează probele ce interesează astfel ca să migreze una spre alta, o dispunere posibilă fiind cea din figura V.6, *A*. În cazul în care „speciile moleculare" analizate inter-

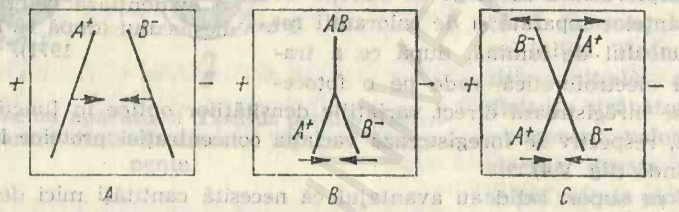



Fig. V.6. Electroforeză încrucișată : start (*A*) ; cu interacții (*B*) ; fără interacții (*C*).

acționează, se obține un front unic de precipitare (fig. V.6, *B*) ; în cazul în care ele nu interacționează, se obțin două fronturi finale, paralele cu cele de plecare (fig. V.6, *C*). Electroforeza încrucișată se folosește în special la studiul reacțiilor de tip ser-antiser.

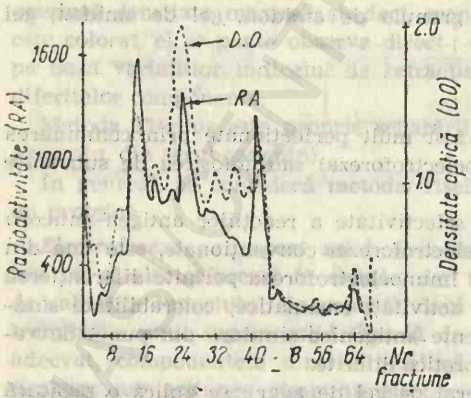



Fig. V.7. Diagrama electroforetică clasică și radioelectroforegrama proteinelor de *Escherichia coli*, marcate cu tritiu $^3H$ (după H. R. Maurer, 1971).

*Radioelectroforeza* se bazează pe dozarea elementelor radioactive în fracțiunile separate electroforetic.

Marcarea radioactivă se face fie „in vivo", fie „in vitro", se prepară materialul biologic și se efectuează electroforeza cu precauții adecvate în fiecare etapă. Citirea electroforeogramelor se face înlocuind celula fotoelectrică prin contoare Geiger-Müller. Diagramele obținute seamănă cu cele de electroforeză, reprezentînd variații în concentrația izotopului radioactiv utilizat, în funcție de poziția pe bandă. În figura V.7 este redată diagrama electroforetică clasică și radioelectroferograma proteinelor de *Escherichia coli* marcate cu $^3H$.

**Focalizarea izoelectrică.** Focalizarea izoelectrică este o metodă electroforetică specială, în care se face uz de un gradient de *p*H. Metoda constă în aplicarea cîmpului electric unui sistem de electroliți în care *p*H-ul crește de la anod (electrodul pozitiv) la catod (electrodul negativ).

Biopolimerii prezintă un caracter amfoter, adică sarcina netă pe moleculă variază în funcție de *p*H-ul mediului. La un *p*H bazic moleculele cu caracter amfoter cedează protoni mediului și rămîn încărcate negativ ; la un *p*H acid, moleculele captează protoni și se încarcă pozitiv. Figura V.8 prezintă variația sarcinii nete (totale) pe o moleculă cu caracter amfoter, cu variația *p*H-ului.

Valoarea *p*H-ului la care sarcina netă pe moleculă este nulă se numește *punct izoionic*. Valoarea *p*H-ului la care mobilitatea electroforetică este nulă se numește *punct izoelectric*. În general, aceste puncte caracteristice unei molecule coincid (ele diferă numai dacă are loc o masivă adsorbție de ioni).

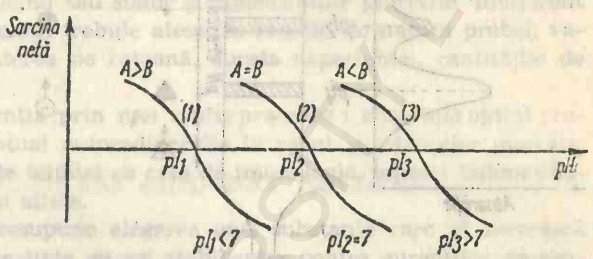



Fig. V.8. Variația sarcinii nete pe molecule cu caracter amfoter, cu variația *p*H-ului : *curba 1* : $A>B \Rightarrow pI_1=7$ ; *curba 2* $A=B \Rightarrow pI_2=7$ ; *curba 3* : $A<B \Rightarrow pI_3=7$.

Valoarea punctului izoelectric (notat cu *pI*) al unei anumite molecule este determinată de compoziția acesteia. Astfel, în cazul proteinelor, valoarea punctului izoelectric este determinată de raportul dintre numărul aminoacizilor cu caracter acid (*A*), față de numărul aminoacizilor cu caracter bazic (*B*). Dacă $A>B$, deci predomină aminoacizii cu caracter acid, punctul izoelectric va fi situat în domeniu acid ($pI<7$) : curba 1 din figura V.8. Dacă $A<B$, deci predomină aminoacizii cu caracter bazic, punctul izoelectric va fi situat în domeniu bazic ($pI>7$) : curba *3* de pe figura V.8. Dacă $A=B$, punctul izoelectric va fi situat la $pH=pI=7$ : curba *2* de pe figura V.8.

Să considerăm o moleculă proteică de tip $A=B$, plasată într-un gradient de *p*H, la $pH<pI$. Ea va fi încărcată pozitiv, așa cum rezultă din figura V.8. Un cîmp electric aplicat paralel cu gradientul de *p*H, cu anodul în zona acidă și catodul în zona bazică, va face ca molecula încărcată pozitiv să migreze spre catod (—). Datorită *p*H-ului din ce în ce mai bazic, molecula respectivă cedează protoni pe măsură ce înaintează spre catod, sarcina ei pozitivă scăzînd tot mai mult pînă în punctul cu $pH=pI$, în care sarcina pozitivă devine egală cu cea negativă, deci sarcina netă devine nulă. În acest punct, molecula iese de sub acțiunea cîmpului electric, oprindu-se. Toate moleculele identice cu aceasta se vor opri la același nivel, deci vor fi *focalizate* la același nivel, într-o zonă îngustă de *p*H, corespunzătoare *p*H-ului izoelectric.

Dacă aceeași moleculă, cu compoziția $A=B$, s-ar fi aflat inițial la un $pH>pI$ deci ar fi fost încărcată negativ, ea ar fi migrat spre anod (+). Datorită gradientului de *p*H, sarcina ei negativă ar fi scăzut progresiv pînă în punctul în care sarcina netă devine nulă, ieșind de sub acțiunea cîmpului electric. Acest punct este din nou punctul izoelectric. Dacă molecula ar trece peste acest punct ea s-ar încărca pozitiv, ar fi atrasă de catod (—), reîntorcîndu-se spre punctul izoelectric de sarcină netă nulă.

Fie o moleculă cu $A>B$, plasată oriunde într-un gradient de *p*H ; sub acțiunea cîmpului electric ea va migra pînă în punctul în care sarcina ei netă devine nulă ($pH=pI_1$ ; fig. V.8, curba *1*), ieșind de sub influența cîmpului electric. Toate mole-

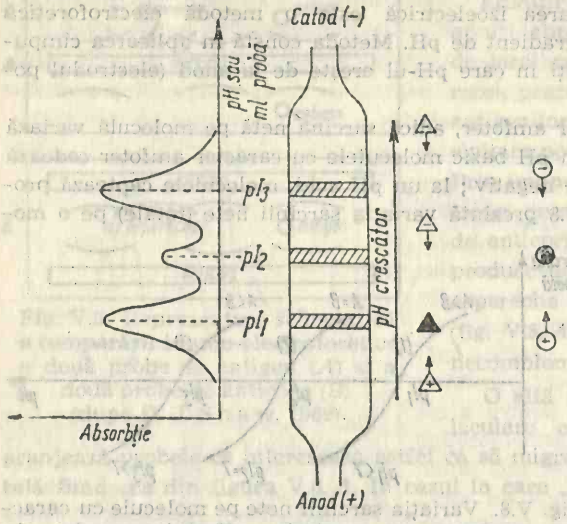



Fig. V.9. Focalizarea și separarea diferitelor specii moleculare prin fracționare izoelectrică.

culele similare se vor opri la nivelul zonei cu $pH = pI_1$. Într-un astfel de sistem se realizează, deci, *focalizarea* oricărei „specii moleculare" într-o zonă îngustă de *p*H, corespunzătoare *p*H-ului izoelectric caracteristic moleculelor respective.

Dacă în sistem există două sau mai multe specii cu *pI*-uri diferite, acestea se vor focaliza la *pI*-urile lor, realizîndu-se *separarea* „speciilor" conform punctelor lor izoelectrice (fig. V.9).

Focalizarea izoelectrică este, deci, o *metodă de separare* care permite concentrarea moleculelor cu caracter amfoter într-o zonă îngustă de *p*H, corespunzătoare punctului lor izoelectric. Focalizarea izoelectrică se mai întîlnește și sub denumirea de *fracționare izoelectrică* (fig. V.10).

Focalizarea izoelectrică se poate realiza pe diverse suporturi (solide sau lichide), în fiecare caz existînd mai multe posibilități de aranjare a unui gradient de *p*H convenabil. La ora actuală se lucrează cel mai frecvent pe geluri de poliacrilamidă, de agaroză (în strat subțire sau coloană, eventual și cu gradient de porozitate) sau pe coloane lichide stabilizate printr-un gradient de densitate.

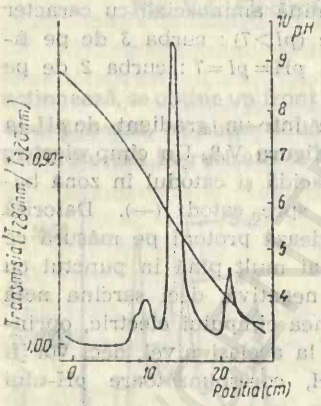



Fig. V.10. Fracționarea izoelectrică a albuminei de ser uman; punctul izoelectric corespunzător picului principal este: $pI = 5{,}38 \pm 0{,}05$ (după N. Catsimpoolas, 1976).

Cea mai dificilă problemă este realizarea unui gradient de *p*H stabil și de valori convenabile. Focalizarea izoelectrică s-a răspîndit de fapt, ca metodă curentă de laborator, numai după sintetizarea de către O. Vesterberg (1966) a unor acizi alifatici poliaminopolicarboxilici cunoscuți sub numele de *amfoliți*, care permit realizarea rapidă și comodă a unui *gradient liniar și stabil de pH*. Amfoliții se sintetizează din acid acrilic și diferite polietilen-poliamine, rezultînd un amestec de analogi cu puncte izoelectrice între 2,5—11. Amfoliții prezintă o solubilitate mare în apă și capacitate mare de tamponare; absorbția lor la radiații cu 280 nm este mică, permițînd detecția optică a proteinelor separate; conductanța lor este mare, astfel că efectul termic Joule, care însoțește trecerea curentului aplicat, este mic (încălzirea excesivă ar duce la degradarea probei). Capacitatea de tamponare a amfoliților trebuie să fie mai mare decît aceea a proteinelor din probă, pen-

tru ca gradientul să fie determinat numai de amfoliți, respectiv ca proteinele de separat să nu perturbe gradientul.

În absența cîmpului electric, amestecul de amfoliți prezintă o valoare medie unică a *p*H-ului. La aplicarea cîmpului electric, amfoliții migrează conform semnului sarcinii lor nete, spre anod sau catod, se opresc la punctul izoelectric, conferind mediului din jur un *p*H egal cu *p*I-ul lor. Astfel, cu un amestec potrivit de amfoliți, se poate realiza un gradient liniar de *p*H.

Alegerea condițiilor concrete de lucru depinde de o serie de factori : trebuie ales tipul de aparat, tipul de suport (lichid sau solid) și dimensiunile potrivite. Indiferent de natura suportului (solid sau lichid) trebuie alese, în funcție de natura probei, valorile următorilor parametrii : puterea pe coloană, durata experienței, cantitățile de aditivi ca detergenți, uree, săruri.

Proteinele separate se pot evidenția prin mai multe procedee : absorbție optică ; colorare, activitate enzimatică, eventual autoradiografie în cazul substanțelor marcate. Este posibilă și combinarea cu alte tehnici ca cele de imunologie, tehnici bidimensionale, utilizare de izotopi marcați și altele.

Utilizarea coloanelor lichide presupune alegerea unei substanțe care să servească la realizarea unui gradient de densitate cu rol stabilizator contra curenților de convecție ; utilizarea suporturilor solide (în particular, geluri) presupune alegerea unor formule adecvate de preparare. Avantajul lucrului pe gel constă în aceea că proteinele prezintă o tendință mai mică de precipitare la punctul izoelectric decît pe coloană lichidă ; suportul solid permite aranjarea experiențelor bidimensionale. Avantajul utilizării coloanelor lichide constă în aceea că se obțin rezoluții mai bune, iar *p*I-urile se determină fără distorsionări datorate eventualelor adsorbții sau dificultăților de migrare pe suportul solid.

Focalizarea izoelectrică permite separarea unor molecule cu diferențe foarte mici de structură (de exemplu, diferențe de cîțiva aminoacizi în cazul proteinelor), permite separarea moleculelor modificate prin deaminări, decarboxilări, ruperea unor legături, legarea unor molecule mici ca ioni metalici, hormoni, acizi grași, coenzime, grupări prostetice.

Focalizarea izoelectrică a permis obținerea unor rezultate deosebite în cercetarea clinică ; astfel, s-au putut separa unele forme de hemoglobină normală și anormală, corelîndu-se prezența acestora cu natura bolilor indivizilor donatori. S-au separat unele forme de lipoproteine și s-a corelat prezența acestora cu riscul mărit de ischemie cardiacă, infarct, ateroscleroză. Analiza proteinelor urinare ar putea ajuta la detectarea timpurie a unor boli renale. Rezultate deosebite s-au obținut prin separări pe fluid cefalorahidian recoltat de la pacienți cu diverse tulburări neurologice. În domeniul oncologiei, s-au realizat studii pe forme moleculare multiple, cu stabilirea frecvenței de apariție a acestor forme moleculare corelat cu îmbolnăviri canceroase. Rezultate remarcabile s-au obținut în studiul proteinelor membranelor celulelor neoplazice.

În genetică, separările izoelectrice au permis clarificarea unor aspecte legate de boli ereditare la om și anumite specii de animale. În imunologie, în mod deosebit în combinare cu imunoelectroforeza, se obțin separări rapide și de bună calitate.

BIBLIOGRAFIE

Catsimpoolas, N. *Isoelectric Focusing.* Academic Press, New York, 1976.
Maurer, H. R. *Disc Electrophoresis.* Walter de Gruyter, 1971.
Shaw, D. J. *Electrophoresis.* Academic Press, New York, 1969.

Anexa VI

## ANALIZA TERMALĂ DIFERENȚIALĂ (ATD)

*ATD* este o metodă rapidă de determinare a căldurilor specifice ale combinațiilor organice complexe, aplicabilă în biologie, biochimie și chimie farmaceutică.

Capacitatea calorică și căldurile specifice de tranziție ale solidelor și lichidelor nevolatile, precum și parametrii cinetici ai proceselor dinamice pot fi determinate ușor și precis prin calorimetria cu baleiaj diferențial („differential scanning calorimetry" — *DSC*) (fig. VI.1). Din figură rezultă următoarele: cînd o probă de material este supusă unui program de variație liniară a temperaturii, fluxul de căldură în preparat este proporțional cu căldura specifică instantanee. Înregistrînd viteza de variație a fluxului de căldură ca o funcție de temperatură și comparînd cu un standard în aceleași condiții (linia de bază din fig. VI.1), se determină căldura specifică a probei ca o funcție de temperatură. Cu această metodă propusă de M. J. O'Neill în 1966 s-au atins precizii de peste 0,3%, care se apropie de precizia calorimetriei adiabatice. O dezvoltare recentă, importantă constă din programarea funcționării instrumentului termic cu un calculator.

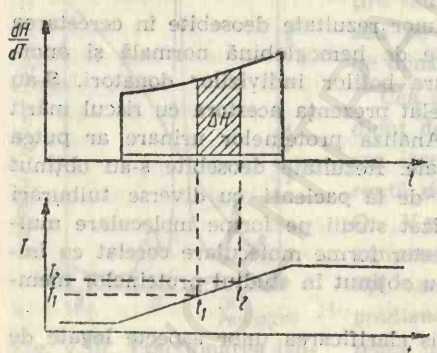
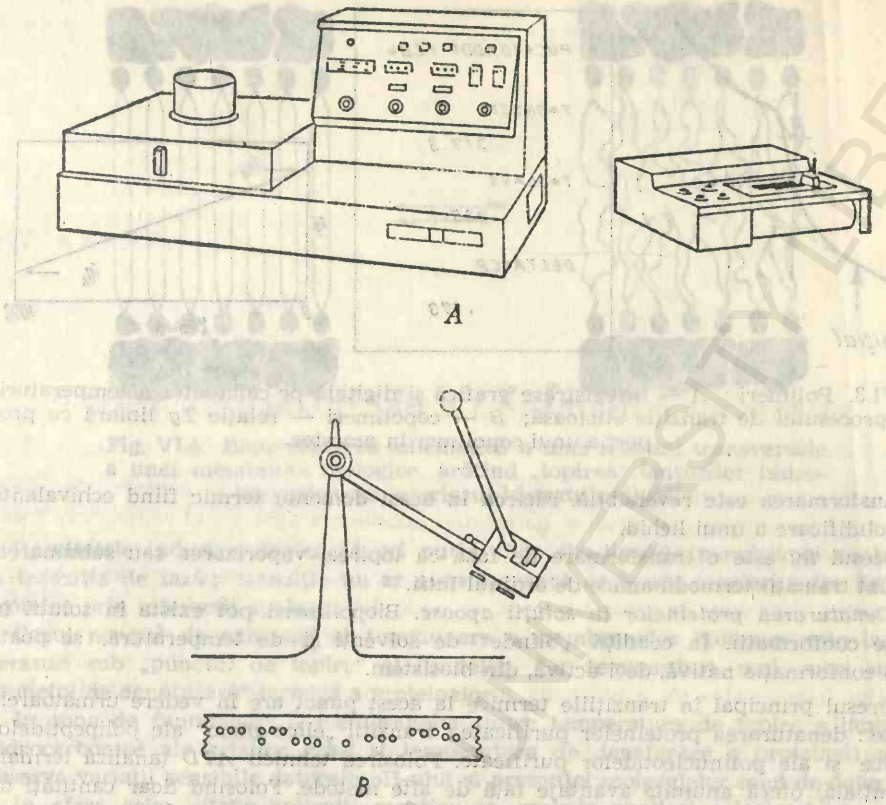


Fig. VI.1. Principiul analizei termale diferențiale.

**Calorimetrul cu baleiaj diferențial.** Principiul de funcționare a acestui instrument a fost descris în 1964, iar aparatele au fost construite apoi de diverse firme. De atunci, cea mai mare parte a datelor publicate cu privire la călduri specifice ale polimerilor și marea parte a energiilor de tranziție ale cristalelor lichide au fost obținute prin tehnica *ATD*. Marele avantaj al operațiilor cu aceste instrumente este că se măsoară în mod diferențial puterea absorbită sau degajată de preparat, deci suprafața de sub maximul curbei de absorbție este direct convertibilă în unități de energie. În plus, această conversie este independentă de unele variabile experimentale, ca poziția probei și rezistențele termice din instrument, care influențează puternic ariile de sub maxim în cazul altor tipuri de instrumente (fig. VI.2, *A*, *B*).




VI.2. Etapele analizei unui proces prin calorimetrie cu baleiaj diferențial : *A* — înregistrarea datelor ; *B* — prelucrarea datelor cu cartele de date măsurate și înregistrate într-un sistem programabil integrator.

**Aplicații:**

1. *Polimeri.* Toți polimerii prezintă o *cristalinitate* parțială. $T_G$ indică *temperatura de tranziție* a polimerilor în starea amorfă. Schimbările calorice care se petrec la această temperatură sînt datorate unui *coeficient de expansiune* și unei *capacități calorice*, care descresc odată cu proporția amorfă din compoziție.

$T_G$ este foarte dificil de detectat în cazul polimerilor cu un grad înalt de cristalizare (fig. VI.3).

Tranziția polimerilor la temperatura $T_G$ este o tranziție termodinamică clasică, de ordinul doi. De exemplu, o tranziție de ordinul întîi implică o discontinuitate a unui parametru, ca volumul sau cantitatea de căldură ; o tranziție de ordinul doi implică discontinuitatea unui parametru termodinamic secundar ca, de exemplu, capacitatea calorică ; aceasta este obținută ca o discontinuitate a unei variabile termodinamice primare.

$T_G$ este o proprietate termică importantă, care caracterizează proprietățile multor polimeri ; *tranziția* (mai corect numită *transformare*) este echivalentă cu o lichefiere prin încălzire în domeniul de temperatură $T_G$ a unui polimer ce trece de la starea sticloasă la starea lichidă.

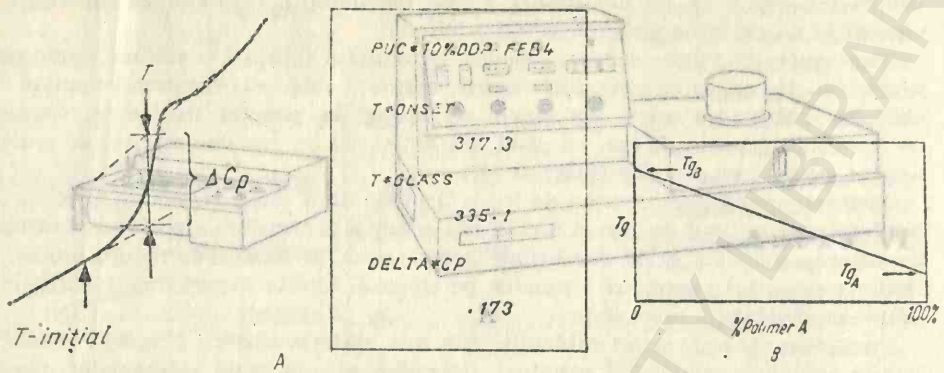



Fig. VI.3. Polimeri : *A* — înregistrare grafică și digitală pe calculator a temperaturii *Tg* a procesului de tranziție sticloasă; *B* — copolimeri — relație *Tg* liniară cu proporția unui copolimer în amestec.

Transformarea este reversibilă, răcirea în acest domeniu termic fiind echivalentă cu o solidificare a unui lichid.

Procesul nu este o transformare de fază ca topirea, vaporizarea sau sublimarea, care sînt tranziții termodinamice de ordinul întîi.

2. *Denaturarea proteinelor în soluții apoase.* Biopolimerii pot exista în soluții în diverse conformații. În condiții „blînde" de solvenți și de temperatură, se poate păstra conformația nativă, deci activă, din biosistem.

Interesul principal în tranzițiile termice la acest punct are în vedere următoarele aspecte : denaturarea proteinelor purificate ; tranziții „elice-ghem" ale polipeptidelor sintetice și ale polinucleotidelor purificate. Folosirea tehnicii *ATD* (analiza termală diferențială) oferă anumite avantaje față de alte metode. Folosind doar cantități de ordinul miligramelor de soluție și afectînd doar cîteva minute pentru termogramă, se obțin date semnificative cu un minim de investiție de timp și material. Astfel, la fiecare citire se obțin entalpia cît și temperatura de tranziție în funcție de compoziția în solvit și solvent. În plus, devin accesibile procese cu mai multe praguri și cinetici deosebite ce nu pot fi studiate prin alte metode calorimetrice, cum ar fi, de exemplu, datele de dependență de temperatură a energiei libere.

În domeniul tranzițiilor biochimice în soluții apoase cu energie foarte mică s-a ajuns la o sensibilitate a puterii de $10^{-6}$ cal/sec și o rezoluție de $50 \cdot 10^{-6}$ cal pentru 10 mg de soluție-probă.

3. *Membrane biologice.* H. Davson și J. Danielli au sugerat că fosfolipidele din membrane ar fi aranjate într-o microfază lamelară în mod similar cu conformația lor în apă. Prin *ATD* s-a adus încă o dovadă în sprijinul acestei dispuneri. S-au obținut curbe de absorbție termică din membranele și lipidele extrase din unele organisme unicelulare, numite *endoterme biologice* (fig. VI.4).

Pentru membranele conținînd acizi grași saturați, tranziția fazei lipidice are loc la temperaturi mai mari decît pentru cele ce conțin acizi grași nesaturați. În toate cazurile, temperatura de tranziție a membranei acoperă temperaturile de tranziție ale lipidelor extrase din membrană dispersate în apă.

Conceptul nou de „punct de topire", definit pe baza *ATD* pentru membrane și chiar și pentru celulele vii, are implicații structurale evidente. Lipidele se află în membrane într-o stare cristalin-lichidă, conform cu modelul propus inițial de Davson și Danielli.

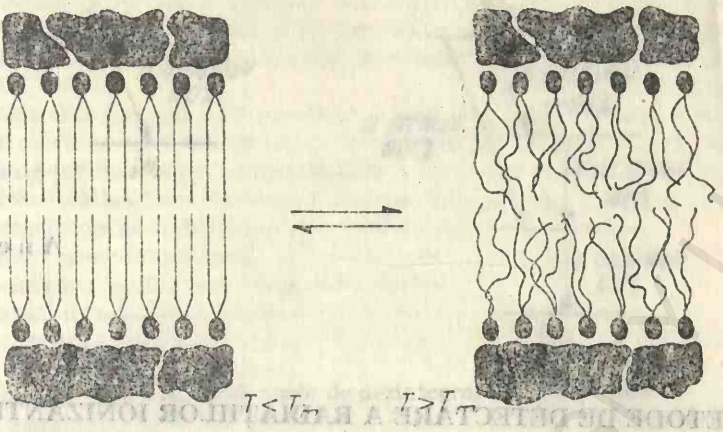



Fig. VI.4. Reprezentarea schematică a unei secțiuni transversale a unei membrane biologice, arătînd „topirea" lanțurilor hidrocarburice din interiorul bistratului lipidic.

Rezultatele indică și faptul că cel puțin 75% din lipidele membranei contribuie la tranziția de fază; tranziția nu ar avea loc dacă ar exista asocieri între lipide și proteine prin interacții apolare.

Cazul normal de existență și funcționare a membranelor biologice este la temperaturi sub „punctul de topire" al lipidelor. La temperaturi mai mari se află „punctul de denaturare" termică a proteinelor.

În zona de funcționare a membranelor (între temperatura de topire a lanțurilor hidrocarbonice ale acizilor grași și temperatura de denaturare a proteinei) se pot observa variații sensibile datorate *p*H-ului și prezenței moleculelor mici de detergenți.

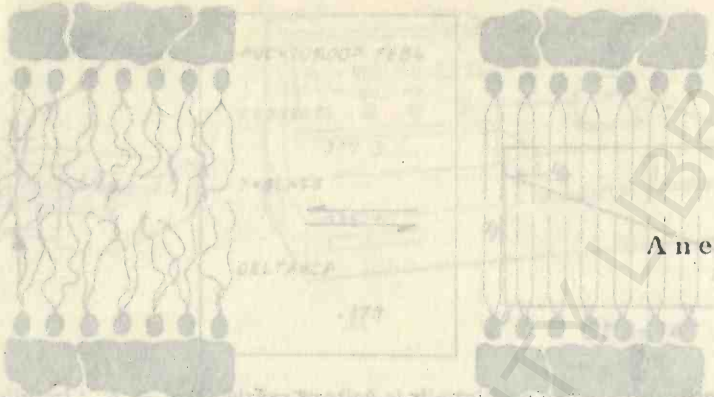
În afara celor cîteva aplicații menționate, metoda analizei calorimetrice cu baleiaj diferențial este ideală pentru studiul proteinelor și membranelor celulare, „in situ" și în celule intacte.

## BIBLIOGRAFIE

Landbroke, B. D., Chapman, D. *Thermal analysis of lipids, proteins and biological membranes.* A review and summary of recent studies. Chem. Phys. Lipids, *3*, 304, 1969.

Sturtevant, J. M. *Some Applications of calorimetry in biochemistry and biology.* În: „Annual Review of Biophysics and Bioengineering", *3*, 35, 1974.

Bach, D. and Miller, I. R. *Influence of basic polypeptides on the phase transition of phospholipid liposomes.* În: „Biochim. Biophys. Acta", *433*, 13, 1976.



Anexa VII

# METODE DE DETECTARE A RADIAȚIILOR IONIZANTE

În biologie și medicină, măsurarea radiațiilor ionizante este necesară în două situații mai importante : *1)* cînd se *determină activitatea* unei surse radioactive folosită ca trasor. În acest caz, detectorul de radiații este utilizat ca numărător de particule ; 2) cînd se *determină efectul* unui fascicul de radiații ionizante asupra unui mediu traversat, în punctul unde se află detectorul. Detectorul este utilizat de data aceasta ca un dozimetru, adică măsoară doza de radiații absorbită de un mediu.

Efectul fizic produs de o particulă ionizantă este foarte slab. Unii detectori însă pot amplifica acest efect, rezultînd un semnal detectabil. Aceste aparate capabile să înregistreze particulele ionizante una cîte una sînt *numărătoarele*. Cele mai utilizate tipuri sînt *detectorii cu gaz* și *detectorii cu scintilație*.

În alți detectori însă, semnalul electronic dat este prea slab și aceștia nu pot fi utilizați ca numărătoare. Dacă, însă, un număr mare de particule ating acest detector, semnalul electric rezultant este destul de mare pentru a fi măsurat. Aceste aparate, numite *dozimetre*, sînt utilizate pentru o detectare globală și nu individuală a trecerii particulelor ionizante. Cel mai utilizat tip este camera de ionizare.

**Mărimi caracteristice surselor radioactive și factori ce influențează măsurătorile acestor surse.** O sursă radioactivă poate fi caracterizată cantitativ măsurîndu-i-se viteza de numărare, din care apoi se poate calcula activitatea sursei, cît și fluxul de radiații emis de către aceasta.

1. *Activitatea* $A$ este mărimea principală care caracterizează o sursă radioactivă definită ca numărul dezintegrărilor ce au loc în unitatea de timp.

Unitatea acestei mărimi este *dezintegrarea pe secundă* (dez/s), numită în S.I. *bequerel* (Bq). Deoarece această unitate este mult prea mică pentru sursele uzuale, se folosesc multiplii și submultiplii altei unități numite *Curie* (Ci) : $1\ Ci = 3{,}7 \times 10^{10}$ dez/s $= 3{,}7 \times 10^{10}$ Bq.

Într-o unitate nucleară unde se efectuează lucrări de categoria I, cu surse de radiotoxicitate mare, se admit activități de $10^{-2}$ Ci, în timp ce pentru sursele de radiotoxicitate mică se admit activități de 10 Ci.

2. *Fluxul de radiații* emis de o sursă radioactivă este o altă mărime caracteristică unei surse. Pentru măsurarea activității trebuie precizat tipul și numărul de radiații de un anumit tip emis la o dezintegrare („*factorul de schemă*"), care poate fi calculat prin examinarea schemelor de dezintegrare a radionuclizilor (fig. VII.1).

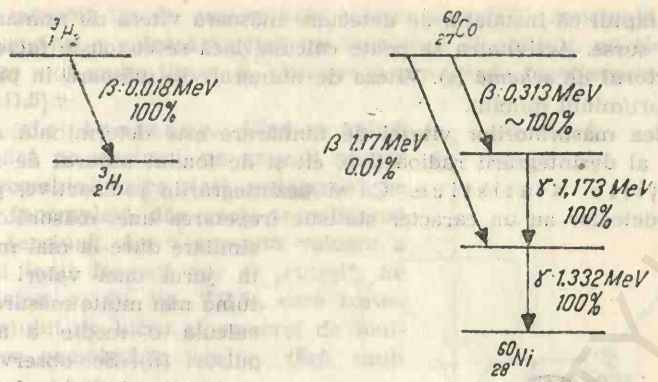



Fig. VII.1. Schemele de dezintegrare a ${}^{3}_{1}H$ şi ${}^{60}_{27}Co$.

În cazul unei scheme de dezintegrare cu o singură tranziţie β (fig. VII.1, *A*), sursa emite cîte o particulă β la fiecare dezintegrare şi, deci, fluxul total de radiaţii β (emis în tot spaţiul) este egal cu activitatea Λ. Dacă, însă, sursa are o schemă de dezintegrare mai complexă (fig. VII.1, *B*) trebuie calculat factorul de schemă (*s*). De exemplu, în cazul $^{60}Co$ $s_\beta = 1$ şi $s_\gamma = 2$. În acest caz, fluxul de radiaţii β ($\varphi_\beta$) emis în toate direcţiile va fi :

$$\varphi_\beta = s_\beta \Lambda ,$$

iar fluxul de radiaţii γ ($\varphi_\gamma$) emis în toate direcţiile va fi :

$$\varphi_\gamma = s_\gamma \Lambda .$$

Fluxul de radiaţii emis în toate direcţiile este fluxul emis în unghiul solid $4\pi$ şi se numeşte *flux total.*

3. *Viteza de numărare.* O sursă radioactivă este măsurată cu un detector de radiaţii. Dacă detectorul este plasat la distanţa x faţă de sursă, el se află într-un fascicul de radiaţii a cărui intensitate într-un punct (*I*) se obţine raportînd fluxul total la suprafaţa sferei de rază x ($4\pi x^2$), deoarece radiaţiile emise de sursa radioactivă se distribuie uniform în spaţiu (fig. VII.2) :

$$I = \frac{\varphi}{4\pi x^2} = \frac{s\Lambda}{4\pi x^2} .$$

Dacă detectorul prezintă la iradiere o fereastră de intrare cu suprafaţa *a* sau o secţiune transversală cu suprafaţa *a*, iar eficacitatea lui este ε, atunci viteza de numărare *(R)* este :

$$R = \varepsilon\, a\, I = \frac{\varepsilon a s \Lambda}{4\pi x^2} .$$

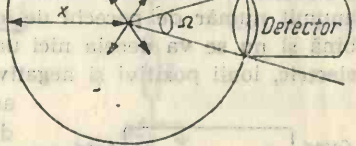



Fig. VII.2. Geometria de măsurare.

Factorul $\frac{a}{4\pi x^2}$ este „unghiul solid" relativ (Ω) şi reprezintă fracţiunea din numărul total de radiaţii emergente din sursa radioactivă care pătrund în volumul sensibil al detectorului. Se foloseşte noţiunea de *factor de detectare* (*g*), definit ca : $g = \frac{\varepsilon a}{4\pi x^2}$, astfel încît viteza de numărare devine :

$$R = g\, s \Lambda .$$

Subliniem faptul că instalația de detectare măsoară viteza de numărare și nu activitatea unei surse. Activitatea se poate calcula dacă se cunoaște *factorul de detectare* ($g$) și *factorul de schemă* ($s$). Viteza de numărare se măsoară în pulsuri/secundă (p/s) sau pulsuri/minut (p/min).

Variabilitatea măsurătorilor vitezei de numărare este determinată atît de caracterul statistic al dezintegrării radioactive, cît și de fondul natural de radiații.

F l u c t u a ț i i l e  s t a t i s t i c e. Ca și dezintegrările radioactive, pulsurile produse într-un detector au un caracter statistic (repetarea unei măsurători în condiții similare duce la mai multe rezultate în jurul unei valori medii). Efectuînd mai multe măsurători, se poate calcula o medie a numărului de pulsuri ($\bar{n}$). Se observă o dispersie a valorilor individuale în jurul mediei, fiecare din acestea diferind de medie cu o anumită abatere. Abaterile mărimii măsurate față de valoarea medie se numesc *fluctuații statistice.*

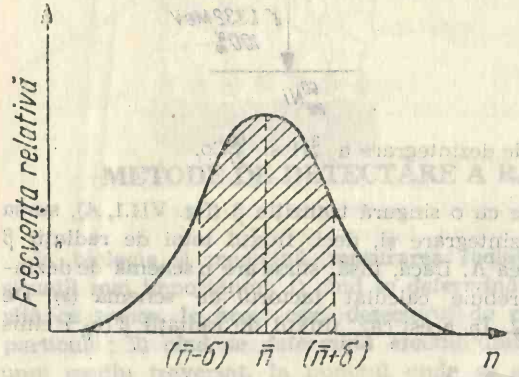


Fig. VII.3. Dispersia valorilor numărului $\bar{n}$ de dezintegrări înregistrate în cazul unui număr mare de măsurători.

Frecvența relativă a diferitelor valori, reprezentată grafic, are forma unei curbe Gauss, centrată pe valoarea medie $\bar{n}$ (fig. VII.3). Calculînd abaterea standard a acestei distribuții de valori ($\sigma$) se poate spune că există o probabilitate de 68% ca o măsurătoare individuală să fie cuprinsă în intervalul $(\bar{n}\pm\sigma)$, și o probabilitate de 95% ca ea să apară în intervalul $(\bar{n}\pm 2\sigma)$.

F o n d u l  d e  r a d i a ț i i este un factor de care trebuie ținut seamă pentru a diminua o altă cauză de erori în măsurători. Acesta trebuie ținut cît mai scăzut, lucru care se realizează prin închiderea detectorului într-un strat gros de absorbant (blindaj de plumb).

**Tipuri de detectori.** Detectorii folosiți pentru înregistrarea radiațiilor ionizante au ca element sensibil, unde se petrece ionizarea, un mediu gazos, lichid sau solid.

*Detectorii cu gaz.* Efectul fizic utilizat în detectare este *ionizarea* unui gaz. Dacă o particulă (direct sau indirect ionizantă) interacționează cu mediul, va produce un anumit număr de perechi de ioni (v. *Capit. 12.1)*. Într-un gaz, acești ioni se recombină și nu se va decela nici un efect. Dacă acest gaz este însă plasat într-un cîmp electric, ionii pozitivi și negativi se vor deplasa spre cei 2 electrozi care vor culege acești ioni: astfel, interacția unei particule cu gazul din contor se traduce printr-un semnal electric cules la borne. Amplitudinea acestui semnal $q$ (cantitate de electricitate) este proporțională cu numărul de ioni culeși pe electrozi (fig. VII.4).

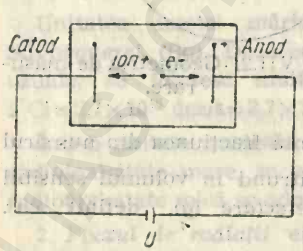


Fig. VII.4. Detectorul cu gaz.

Transportul unui ion pozitiv la catod și a unui electron la anod are ca rezultat global transportul unei singure sarcini prin circuit: astfel, ionul (+) se recombină cu un electron de pe catod, și totul se petrece ca și cum un electron ar fi fost transportat de la catod la anod.

Pentru un anumit tip de particulă (o energie absorbită, constantă în cursul interacțiunii), sarcina $q$ culeasă variază cu tensiunea $U$ aplicată pe electrozi. Astfel, se pot distinge mai multe tipuri de utilizare (regimuri de funcționare) a detectorilor cu gaz (fig. VII.5) :

Camera de ionizare. Cînd se aplică o tensiune mică pe electrozi, un anumit număr de ioni se recombină între ei și „culegerea" pe electrozi este incompletă, dar crește proporțional cu creșterea tensiunii. La o anumită valoare a tensiunii, toți ionii formați vor fi „culeși". Se atinge un platou $q_i$ (v. fig. VII.5), care corespunde domeniului de lucru al camerei de ionizare (culegere completă a ionilor, fără multiplicare).

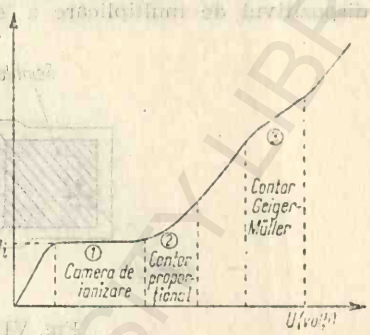


Fig. VII.5. Regimurile de funcționare a detectorilor cu gaz.

Se poate calcula numărul de ioni formați în timpul interacțiunii, care este dat de raportul : $\frac{q_i}{e}$, unde $e$ este sarcina electronului ($1{,}6 \times 10^{-19}$ C). Numărul de ioni produși de o particulă este în general prea mic pentru a produce o cantitate de electricitate detectabilă (camera de ionizare nu este, deci, un numărător de particule), dar aceste sarcini electrice cumulate în timp la nivelul electrozilor sînt totalizate. Astfel se ajunge la doza de ioni (v. *Capit. 12.2*) și detectorul este utilizat ca un dozimetru (etalonat în röntgeni).

Se poate calcula, de asemenea, și doza de energie, știind că fiecare pereche de ioni formați corespunde consumului de către aer, de exemplu, a unei energii de 34 eV. Energia pierdută de radiație ($E$) în volumul camerei de ionizare va fi, deci : $E = \frac{q_i}{e} \times 34$. Și în acest caz detectorul este folosit ca un dozimetru (etalonat în razi).

Contorul Geiger-Müller. Cînd tensiunea aplicată este suficient de mare, ionizarea primară declanșează un fenomen de avalanșă de electroni care se propagă pe electrod. Se obține astfel un impuls de curent de amplitudine mare independentă de energia absorbită. Acesta este domeniul contorilor Geiger-Müller (v. fig. VII.5), care sînt foarte mult folosiți din cauză că nu necesită o amplificare mare ulterioară a impulsului din detector (construcție mai simplă și mai ieftină) ; impulsul de curent produce un impuls de tensiune pe un rezistor $R$ (fig. VII.6), care va fi înregistrat de un numărător electronic de impulsuri.

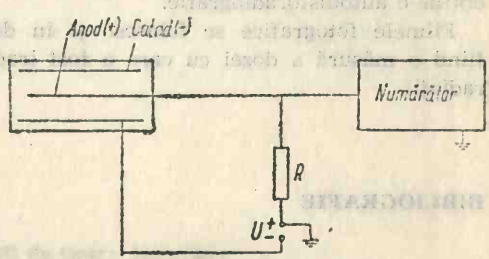


Fig. VII.6. Detector Geiger-Müller cu instalația de numărare auxiliară.

Detectori solizi sau lichizi. Detectorul *cu scintilație* este astăzi cel mai utilizat tip de detector. Detectorul (sonda de scintilație) se compune dintr-un *cristal de scintilație*, un *fotomultiplicator* și un *preamplificator* (fig. VII.7). Sonda este conectată la o sursă de tensiune (1 000—1 500 V) și la numărătorul de impulsuri.

Scintilatorul este de obicei un cristal de NaI activat cu thaliu, în care se petrec următoarele 2 fenomene mai importante :

— energia radiației incidente se absoarbe în cristal producînd sau *ionizarea*, sau *excitarea* moleculelor cristalului ;

— moleculele care se dezexcită emit fotoni luminoși (deci scintilații) în spectrul vizibil sau în domeniul UV apropiat. Cantitatea de lumină emisă este proporțională cu energia absorbită în cristal.

Fotomultiplicatorul are un fotocatod care emite electroni cînd este iluminat și dispozitivul de multiplicare a electronilor constituit dintr-o serie de electrozi de

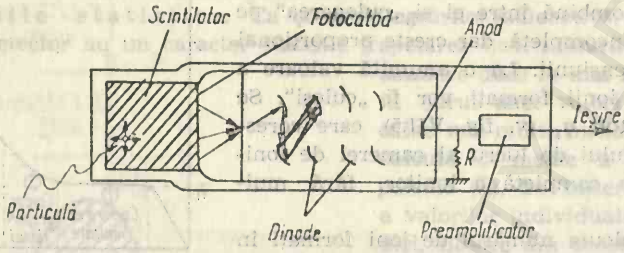



Fig. VII.7. Detectorul cu scintilație.

bombardare (dinode). Lovirea unei dinode de către un electron provoacă scoaterea mai multor electroni din ea (efectul de multiplicare). Dacă se așază o serie de dinode la potențiale crescătoare astfel ca electronii să fie de fiecare dată atrași de dinoda următoare, se poate ajunge la o multiplicare considerabilă ($10^{10}$). În sfîrșit, electronii sînt culeși pe anod unde dau naștere unui impuls electric foarte scurt ($10^{-8}$ s). Astfel sarcina electrică culeasă este proporțională cu numărul de fotoni luminoși ce au lovit fotocatodul, număr care este proporțional cu energia adusă în cristal de către particula incidentă.

Scintilatorii lichizi se folosesc în cazul în care proba urmărită este un emițător $\beta$ foarte slab, caz în care se amestecă această probă cu lichidul de scintilație.

Emulsia fotografică se folosește, de asemenea, ca un detector eficace de radiații, mai ales în cazul emițătorilor $\beta$ ce au un parcurs mic. Tehnica autoradiografică plasează o emulsie sensibilă în contact cu o secțiune de țesut în care s-a încorporat un izotop radioactiv. După developare, fotografia va arăta concentrația de izotop în fiecare punct. Dacă se asociază acestei imagini structura microscopică a țesutului, se obține o autohistoradiografie.

Filmele fotografice se folosesc și în dozimetria individuală, înnegrirea filmului fiind o măsură a dozei cu care a fost iradiată persoana care lucrează în mediul de radiații.

## BIBLIOGRAFIE

Oncescu, M. *Detectarea radiațiilor nucleare.* (Note de curs). C.U.I.R., București, 1974.

Dutreix, J., Desgrez, A., Bok, B., Chevalier, C. *Physique et biophysique*, vol. 4. Édit. Masson et Cie, Paris, 1973.

Nr. plan: 5924. Coli de tipar: 14,25. Bun de tipar: 29.XI.1980. Ediția 1980.

Întreprinderea poligrafică „Banat"
Timișoara, Calea Aradului nr. 1.
Republica Socialistă România.

Comanda nr. 148.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Lei 12,40

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY